



Epidémiologie des cardiopathies ischémiques du sujet âgé non institutionnalisé-Etude des Trois Cités

Céline Straczek

► To cite this version:

Céline Straczek. Epidémiologie des cardiopathies ischémiques du sujet âgé non institutionnalisé-Etude des Trois Cités. Santé publique et épidémiologie. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français. NNT : 2011PA11T065 . tel-00670145

HAL Id: tel-00670145

<https://theses.hal.science/tel-00670145>

Submitted on 14 Feb 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE PARIS XI-FACULTE DE MEDECINE PARIS-SUD
ECOLE DOCTORALE 420

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS XI

Champ disciplinaire : EPIDEMIOLOGIE ET INTERVENTION EN SANTE PUBLIQUE

Présentée et soutenue publiquement par

Céline STRACZEK

Le 18 octobre 2011

Epidémiologie des cardiopathies ischémiques du sujet âgé non
institutionnalisé-Etude des Trois Cités

Directeur de thèse : Jean-Philippe EMPANA

Membres du jury :

M Patrick ASSAYAG, Président,
M Patrick MAISON, Rapporteur,
M Pedro-Manuel MARQUES-VIDAL, Rapporteur,
M Athanase BENETOS, Examineur,
M Jean-Philippe EMPANA, Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Je remercie Monsieur le Professeur Patrick Assayag, chef du service de cardiologie au Centre Hospitalier Universitaire de Bicêtre et professeur à la faculté de médecine de Bicêtre, d'avoir accepté avec autant d'enthousiasme d'être le président de mon jury de thèse.

Monsieur le Docteur Pedro Marques-Vidal, Chef de Clinique Adjoint de l'Institut de Médecine Sociale et Préventive, a accepté de lire ce mémoire en tant que rapporteur. Je lui adresse mes remerciements pour ses remarques pertinentes et les corrections minutieuses qu'il a apportées à ce manuscrit.

Monsieur le Docteur Patrick Maison, praticien hospitalier dans le service de Pharmacologie Clinique, Maître de conférences à la faculté de médecine de Créteil, a lui aussi accepté de lire ce mémoire en tant que rapporteur. Je voudrais le remercier pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail et pour ses encouragements.

J'exprime toute ma reconnaissance à Monsieur le Professeur Athanase Benetos, chef du service de Gériatrie au Centre Hospitalier Universitaire de Nancy et professeur à l'Université de Nancy I, Poincaré, d'avoir accepté d'être examinateur de cette thèse.

Enfin, le dernier membre de mon jury mais pas le moindre puisqu'il a dirigé cette thèse est Monsieur le Docteur Jean-Philippe Empana, chargé de recherche dans l'équipe 4 du PARCC, unité INSERM 970. Je le remercie d'avoir dirigé ces travaux avec une grande disponibilité et une forte implication. Ses larges connaissances de l'étude des Trois Cités, son intérêt pour les mesures de discrimination et son expérience de l'épidémiologie cardiovasculaire en général, ont permis l'aboutissement de ce travail dans de bonnes conditions.

Une personne sans qui cette thèse aurait été beaucoup plus compliquée à mener est Muriel Tafflet, ingénieur d'études dans l'équipe 4 du PARCC, unité INSERM 970. Muriel m'a aidée et a su me faire maîtriser certaines fastidieuses procédures du logiciel SAS. Je n'oublierai pas ces moments partagés avec toi dans ce chaleureux bureau de Villejuif.

Un grand merci à Helena Marti-Soler, doctorante dans l'équipe de biostatistique du Centre de Recherche en Epidémiologie et Santé des Populations, UMRS 1018, pour cette collaboration fructueuse à mon travail de recherche, et qui je l'espère, aboutira à une publication.

Je remercie sincèrement Monsieur le Professeur Xavier Jouven, cardiologue à l'hôpital Européen Georges Pompidou et chef de l'équipe 4 du PARCC, unité INSERM 970, d'avoir su me convaincre de débiter une thèse d'Université. Notre collaboration dans le domaine de la mort subite de l'adulte m'a aussi beaucoup apporté en termes de connaissance et de gestion d'étude.

Je souhaite exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur Pierre Ducimetière, chercheur en épidémiologie cardiovasculaire, qui a su partager ses connaissances avec perspicacité sur l'étude des Trois Cités et sur les difficultés méthodologiques du cas-cohorte. Ses conseils avisés ont toujours été très utiles à la mise en valeur de mes travaux de recherche et au développement de mes connaissances personnelles dans le domaine de l'épidémiologie cardiovasculaire.

Je remercie Monsieur Jean Bouyer et ses collaborateurs de l'Ecole Doctorale 420 pour leur soutien, le suivi des thèses en général, et de la mienne en particulier. Vos regards d'épidémiologiste sur nos travaux de thèse et le partage de vos propres expériences lors des séminaires sont toujours un enrichissement. J'exprime aussi toute ma gratitude à Agnès Kesteman et aux successives secrétaires de l'ED420 pour leur patience et les informations précieuses qu'elles ont pu me fournir.

Je profite de cette page de remerciements pour exprimer aussi tout ma sympathie à mes collègues et anciens collègues de l'équipe 4 du PARCC (Sylvie, Marie-Cécile, Catherine, Matthieu, Camille, Renaud, Alain, les deux Florences, pour ne citer qu'eux) ainsi qu'à ceux qui faisaient plus que partager le couloir avec nous à Villejuif (Barbara, Blandine, Nolwenn, Jérémy, Peggy, Ibrahima, Gaëlle, Marie, Annie et Anne). Je me rappellerai toujours nos chaleureuses séances « café » du matin qui nous permettaient de partager nos expériences professionnelles ou de jeunes parents.

Monsieur le Professeur Astier, Madame le Docteur Muriel Paul et mes collègues de la pharmacie de l'hôpital Henri Mondor ont participé indirectement à l'élaboration de cette thèse en me laissant du temps pour la rédaction. Merci à eux.

Je remercie aussi ma sœur Anne, qui « est passée par là », pour son soutien moral et mes parents pour l'aide matérielle qu'ils ont pu m'apporter durant ces quatre années.

J'adresse des remerciements à Guerric pour sa patience et son soutien quotidien. Je voulais enfin exprimer ma tendresse envers Léane et Julian innocents, curieux et pleins de vie : ce sont les moments que nous passons ensemble qui font ma force de tous les jours.

SOMMAIRE

I.	INTRODUCTION.....	11
1.	VIEILLISSEMENT DE LA POPULATION	11
a.	<i>Contexte démographique.....</i>	<i>11</i>
b.	<i>Contexte physiopathologique</i>	<i>14</i>
2.	PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ATHEROSCLEROSE ET DES CARDIOPATHIES ISCHEMIQUES	16
a.	<i>Rôle des lipides</i>	<i>17</i>
b.	<i>Rôle de l'inflammation.....</i>	<i>19</i>
3.	ASSOCIATIONS ENTRE LIPIDES, MARQUEURS DE L'INFLAMMATION ET CARDIOPATHIES ISCHEMIQUES DANS LA POPULATION D'ADULTES D'AGE MOYEN	22
a.	<i>Lipides et cardiopathies ischémiques.....</i>	<i>22</i>
*	Lipides classiques.....	22
*	Apolipoprotéines et nonHDL cholestérol	23
b.	<i>Marqueurs de l'inflammation et cardiopathies ischémiques.....</i>	<i>24</i>
4.	L'ATHEROSCLEROSE ET LES CARDIOPATHIES ISCHEMIQUES CHEZ LES PERSONNES AGEES	26
a.	<i>Influence de l'âge sur l'incidence des cardiopathies ischémiques.....</i>	<i>26</i>
b.	<i>Etude des déterminants des cardiopathies ischémiques dans une population de personnes âgées.....</i>	<i>27</i>
c.	<i>Lipides standards, apolipoprotéines, biomarqueurs de l'inflammation et risque de cardiopathies ischémiques chez les personnes âgées.....</i>	<i>28</i>
*	Lipides classiques, apolipoprotéines et traitements hypolipémiants.....	28
*	CRP-US.....	29
5.	UTILITE PREDICTIVE DE NOUVEAUX MARQUEURS DE RISQUE DES CARDIOPATHIES ISCHEMIQUES	30
II.	OBJECTIFS	34
III.	METHODES.....	35
1.	L'ETUDE DES TROIS CITES	35
a.	<i>Modalités de recrutement.....</i>	<i>35</i>
b.	<i>Questionnaire initial</i>	<i>37</i>
c.	<i>Examens physiques initiaux</i>	<i>38</i>
d.	<i>Caractéristiques générales initiales.....</i>	<i>39</i>
e.	<i>Suivi et recherche des évènements</i>	<i>42</i>
2.	LE CAS-COORTE DANS L'ETUDE DES 3 CITES	44
a.	<i>Principes et définitions.....</i>	<i>44</i>
b.	<i>Analyse de survie dans le contexte du cas-cohorte</i>	<i>46</i>
3.	PLACE DES BIOMARQUEURS DANS LA PREDICTION INDIVIDUELLE DU RISQUE CARDIOVASCULAIRE : METHODE D'EVALUATION DE LA DISCRIMINATION.....	49
*	Le calcul de l'index c de Harrell	49
*	Le Net Reclassification Improvement (NRI).....	50

* Imputations des données manquantes.....	51
IV. RESULTATS.....	54
1. CARACTERISTIQUES GENERALES.....	54
a. <i>Caractéristiques générales des sujets de la cohorte des Trois Cités</i>	54
b. <i>Caractéristiques générales des sujets du cas-cohorte</i>	54
2. RESULTAT 1 : RISQUE DE CARDIOPATHIES ISCHEMIQUES ASSOCIE A LA CONCENTRATION DE CRP-US INITIALE	56
a. <i>Méthodes</i>	56
* Analyses statistiques.....	57
b. <i>Résultats</i>	58
* Caractéristiques à l'inclusion	58
* Données du suivi	60
* Analyses complémentaires	64
3. RESULTAT 2 : RISQUE DE CARDIOPATHIES ISCHEMIQUES ASSOCIE AUX LIPIDES ET APOLIPOPROTEINES CIRCULANTS SELON LA PRISE D'UN TRAITEMENT HYPOLIPEMIANT	66
a. <i>Méthodes</i>	66
* Analyses statistiques.....	67
b. <i>Résultats</i>	68
4. RESULTAT 3 : PLACE DES APOLIPOPROTEINES ET DU NONHDL CHOLESTEROL DANS L'EVALUATION DU RISQUE CORONAIRE DE LA PERSONNE AGEE NON INSTITUTIONNALISEE. ETUDE DES TROIS CITES.....	75
a. <i>Méthodes</i>	75
* Estimation des risques relatifs	75
* Prédiction individuelle	76
b. <i>Résultats</i>	77
V. DISCUSSION GENERALE	89
1. RAPPEL DES PRINCIPAUX RESULTATS.....	89
2. DISCUSSION AUTOUR DES RESULTATS CONCERNANT LA CRP-US	91
3. DISCUSSION AUTOUR DES RESULTATS D'ASSOCIATION ENTRE LIPIDES ET CARDIOPATHIES ISCHEMIQUES PAR TYPE DE TRAITEMENT HYPOLIPEMIANT DECLARE A L'INCLUSION	96
4. DISCUSSION DES RESULTATS AUTOUR DE L'UTILITE DES LIPIDES DANS LA PREDICTION DU RISQUE DE CARDIOPATHIES ISCHEMIQUES CHEZ LA PERSONNE AGEE.....	100
5. LIMITES ET FORCES DE L'ETUDE.....	104
6. PERSPECTIVES.....	106
VI. CONCLUSION.....	107
VII. BIBLIOGRAPHIE	108
VIII. ANNEXES.....	118

Productions scientifiques liées à la thèse

Article 1

☒ Publié ou accepté définitivement ☐ en révision ☐ soumis ☐ en préparation

Références : Straczek C, Ducimetière P, Barberger-Gateau P, Helmer C, Ritchie K, Jouven X, Carcaillon L, Amouyel P, Tzourio C, Empana JP. Higher level of systemic C-reactive protein is independently predictive of coronary heart disease in older community-dwelling adults: the three-city study. J Am Geriatr Soc. 2010;58(1):129-35.

Article 2

☒ Publié ou accepté définitivement ☐ en révision ☐ soumis ☐ en préparation

Références : C. Straczek, M. Tafflet, P. Barberger-Gateau, M Bertrand, A.M.Dupuy, P. Ducimetière, JP. Empana, Do lipids and apolipoproteins predict coronary heart disease under statin therapy in the primary prevention setting in community-dwelling elderly? The 3C Study. Atherosclerosis, 2011 Feb; 214(2):426-31

Cet article a fait l'objet d'une requête par l'International Atherosclerosis Society pour la rédaction d'un commentaire publié sur le site internet de la société.

Article 3

☐ Publié ou accepté définitivement ☐ en révision ☐ soumis ☒ en préparation

Références : Clinical utility of standard lipids and apolipoproteins in relation to coronary heart disease events in the elderly. The Three City Study. C. Straczek, P. Ducimetière, H. Marti-Soler, C Helmer, K Ritchie, C. Tzourio, JP. Empana.

Chapitre d'ouvrage, communication orale, communication affichée

Straczek C, Ducimetière P, Tafflet M, Dartigues JF, Ritchie K, Amouyel P, Tzourio C, Empana JP, « Systemic level of C-reactive protein and incident coronary heart disease among free-living older adults : the Three City Study ». Communication affichée au congrès annuel de la société européenne de prévention Europrevent, 1-3 May 2008, Paris, France

C. Straczek, P. Ducimetière, C Helmer, K. Ritchie, X. Jouven, P. Amouyel, C. Tzourio, JP. Empana, "On statin treatment, circulating lipids and coronary heart disease in community-dwelling elderly. The Three City Study" Communication affichée à la 50ème conférence annuelle d'épidémiologie cardiovasculaire de la société américaine de cardiologie, 50th Cardiovascular Disease Epidemiology and Prevention, 3-5 March 2010, San Francisco, CA, USA

C. Straczek, M. Tafflet, P. Barberger-Gateau, M Bertrand, A.M.Dupuy, P. Ducimetière, JP. Empana “On Statin And Fibrate Treatment, Circulating Lipids And First Coronary Heart Disease In Community-dwelling Elderly People. The Three City Study” communication affichée, European Union Geriatric Society, 29 Sept-1st Oct 2010, Dublin, Ireland

C. Straczek, P. Ducimetière, H. Marti-Soler, C Helmer, K Ritchie, C. Tzourio, JP. Empana, “Clinical utility of standard lipids and apolipoproteins in relation to coronary heart disease events in the elderly. The Three City Study.” Communication affichée modérée, European Society of Cardiology Congress, 27-31 Aug 2011, Paris, France

Résumé

L'objectif est de tester les associations de marqueurs inflammatoires et lipidiques avec la survenue de cardiopathies ischémiques chez la personne âgée non institutionnalisée. Les analyses sont menées dans une étude cas cohorte dans le cadre de l'étude des 3 Cités. Elle inclut 199 sujets ayant développé un premier évènement coronaire sur 4 ans de suivi et 1086 sujets sans antécédents cardiovasculaires (sous cohorte). Un premier travail suggère que la protéine C-réactive (CRP-US) est un marqueur de risque indépendant des évènements coronaires (risque relatif standardisé du log de la CRP-US=1,27 ; IC95%=1,08-1,64) mais n'améliore pas la prédiction du risque coronaire. Le second travail démontre une hétérogénéité dans l'association des lipides classiques et des apolipoprotéines avec les évènements coronaires selon la prise et la nature du traitement hypolipémiant à l'inclusion. Le troisième travail indique que les apolipoprotéines AI et B100 mais pas le non-HDL cholestérol améliorent significativement la prédiction du risque coronaire sur la base d'indice de reclassification.

Mots clés : épidémiologie, personnes âgées, cardiopathies ischémiques, facteurs de risque, prédiction cardiovasculaire individuelle

Abstract

The aim was investigate associations of inflammatory and lipids markers with occurrence of ischaemic heart disease (IHD) in community dwelling elderly subjects. Within the Three City Study, a case cohort study was used including 199 subjects with first coronary events over 4 years and 1086 participants free from prevalent cardiovascular disease (random sample). The first paper showed that C-reactive protein was independently associated with IHD (standardized hazard ratio of log CRP-US=1.27; CI95%=1.08-1.64) but did not improve IHD risk prediction beyond usual risk factors. The second paper showed heterogeneity in the association between lipids and apolipoproteins with IHD depending on the use and the type of lipid-lowering therapy (statins or fibrates). Using imputations and reclassification metrics, the third paper suggested that apolipoproteins AI and B100 added significant predictive information beyond usual risk factors for IHD risk prediction.

Keywords: epidemiology, elderly, ischemic heart disease, risk factors, risk prediction

I. Introduction

1. Vieillissement de la population

a. Contexte démographique

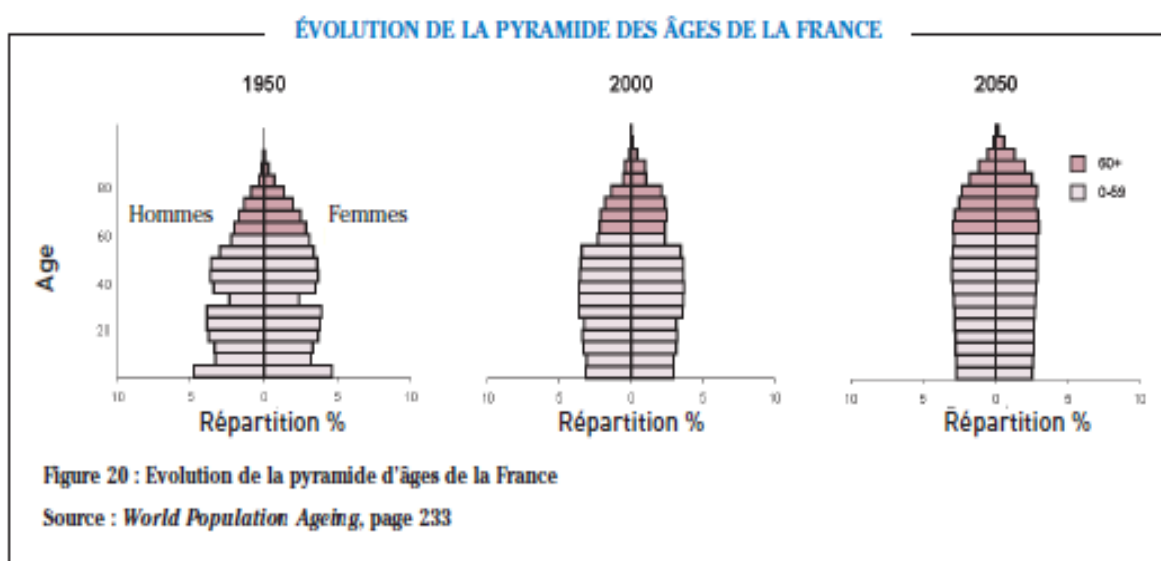
Il existe deux types de vieillissement :

- le vieillissement physiologique qui est un processus inéluctable, très variable d'un individu à l'autre mais qui s'accélère avec l'âge
- le vieillissement démographique, qu'on peut définir comme l'augmentation du nombre et de la proportion des personnes âgées dans la société.

Les personnes âgées dépendantes peuvent vivre en institutions comme des Etablissements d'Hébergement des Personnes âgées Dépendantes. Les personnes âgées dites non institutionnalisées présentent des caractéristiques d'autonomie et d'indépendance qui leur permettent de se maintenir à domicile. Les déterminants des maladies, cardiovasculaires entre autres, peuvent différer entre ces deux types de population. Dans cette thèse, nous nous restreindrons à la population des personnes âgées autonomes vivant à domicile.

En 2006, l'INSEE élabore de nouvelles projections de population pour la France métropolitaine à l'horizon 2050 (1). D'après ces projections, la population continuerait de croître avec 70 millions d'habitants en France en 2050 et le vieillissement de la population se poursuivrait (voir figure 1).

Figure 1 : Evolution de la pyramide des âges de la France



En effet, un habitant sur trois serait âgé de 60 ans ou plus en 2050, contre un sur cinq en 2005 (voir tableau 1).

Tableau 1 : Evolution de la population de la France métropolitaine de 1950 à 2050

Année	Population au 1 ^{er} janvier (en milliers)	Proportion (%) des					Solde naturel (en milliers)	Solde migratoire (en milliers)
		0-19 ans	20-59 ans	60-64 ans	65 ans ou +	75 ans ou +		
1950	41 647	30,1	53,7	4,8	11,4	3,8	+ 327,8	+ 35
1990	56 577	27,8	53,2	5,1	13,9	6,8	+ 236,2	+ 80
2000	58 796	25,6	53,8	4,6	16,0	7,2	+ 243,9	+ 70
2005	60 702	24,9	54,3	4,4	16,4	8,0	+ 243,5	+ 95
2010	62 302	24,3	53,0	6,0	16,7	8,8	+ 199,4	+ 100
2015	63 728	24,0	51,4	6,2	18,4	9,1	+ 163,6	+ 100
2020	64 984	23,7	50,1	6,1	20,1	9,1	+ 135,3	+ 100
2025	66 123	23,1	49,0	6,2	21,7	10,5	+ 119,2	+ 100
2030	67 204	22,6	48,1	6,1	23,2	12,0	+ 111,1	+ 100
2035	68 214	22,2	47,2	6,1	24,5	13,3	+ 81,7	+ 100
2040	69 019	22,1	46,9	5,4	25,6	14,3	+ 27,9	+ 100
2045	69 563	22,0	46,4	5,8	25,8	15,0	- 13,3	+ 100
2050	69 961	21,9	46,2	5,7	26,2	15,6	- 26,4*	+ 100

* Chiffre pour l'année 2049. Les projections s'arrêtent au 1^{er} janvier 2050. Le solde naturel de l'année 2050, différence entre les naissances de 2050 et les décès de cette année, n'est donc pas projeté.

Champ : France métropolitaine.

Source : Insee, *situations démographiques et projections de population 2005-2050, scénario central*.

Le vieillissement démographique touche toute la planète (2). La population mondiale des personnes âgées croît au rythme de 2% par an, soit beaucoup plus rapidement que la population dans son ensemble. Pour les 25 ans qui viennent au moins, elle devrait continuer d'augmenter à un rythme plus rapide que les autres groupes d'âges. Le taux d'accroissement annuel de la population âgée de 60 ans et plus atteindra 2,8% entre 2005 et 2030. C'est un phénomène global plus ou moins avancé selon les pays. A l'exception du Japon, les quinze plus « vieux » pays sont européens : en 2050, la part des 60 ans et plus atteindra 32% de la population européenne contre 21% en 2005.

Ce vieillissement de la population nécessite de mieux comprendre les interactions entre le processus de vieillissement, la physiologie et la maladie. Une des difficultés dans cette compréhension est de définir des limites des groupes d'âges. Traditionnellement, on a l'habitude de choisir le 60ème anniversaire comme seuil de la vieillesse mais aujourd'hui on tend généralement à le porter à 65 ans. Quant à la limite qu'on dénomme « le grand âge », elle se situe quelque part entre 70 et 85 ans. Par commodité, en épidémiologie on s'en tient généralement à 75 ans mais ces seuils sont très arbitraires et ne valent que pour les grands nombres.

b. Contexte physiopathologique

Le vieillissement de l'organisme est associé à des modifications à la fois structurelles et fonctionnelles de l'arbre vasculaire (3). Le vieillissement artériel se traduit par un épaississement et une rigidification de la paroi des artères, définition de l'artériosclérose. L'artériosclérose a été longtemps considérée comme un vieillissement naturel des grosses et moyennes artères. Ainsi, l'âge est un déterminant majeur du vieillissement artériel. Cependant, plusieurs facteurs peuvent influencer l'apparition plus ou moins précoce des modifications liées au vieillissement : on peut citer le diabète et le syndrome métabolique, l'accélération de la fréquence cardiaque, l'hypertension artérielle (4). Avec l'âge, l'augmentation de la rigidité des gros troncs artériels contribue à l'augmentation de la pression pulsée qui se traduit par une hypertension systolique sans hypertension diastolique. Cependant, d'après Benetos *et al*, l'hypertension systolo-diastolique est aussi un accélérateur du vieillissement artériel (5).

Le raccourcissement des télomères est considéré comme un marqueur du vieillissement. Pour un âge donné, la présence de télomères courts pourrait être associée à un risque accru de développement de rigidité artérielle (6). Il a été démontré *in vitro* que le stress oxydant, déterminant majeur du processus du vieillissement, serait responsable d'une usure plus marquée des télomères (7).

2. Physiopathologie de l'athérosclérose et des cardiopathies ischémiques

La définition classique de l'athérosclérose est celle adoptée par l'OMS en 1957. Il s'agit d'une définition morphologique:

«Association variable de remaniements de l'intima des grosses et moyennes artères consistant en une accumulation focale de:

Lipides,

Glucides complexes,

Sang et produits sanguins,

Tissu fibreux,

Dépôts calciques,

le tout accompagné secondairement d'une atrophie de la média»

Ainsi, l'athérosclérose est une maladie dégénérative de l'artère ayant pour origine un remaniement de la paroi artérielle caractérisé par la présence de dépôts lipidiques extracellulaires et de cellules spumeuses. Ceci aboutit à la formation d'une plaque d'athérome dans l'intima des artères de gros et moyen calibre.

Le développement de l'athérosclérose se fait de façon chronique, débute dès l'enfance et progresse de façon silencieuse (plaque athéromateuse stable). L'athérosclérose a pour conséquences générales une sténose progressive des artères, parfois brusquement aggravée, qui est responsable d'une diminution ou d'une interruption du flux sanguin artériel (ischémie). Les coronaires sont une cible privilégiée de l'athérosclérose. Ainsi, une poussée évolutive d'athérosclérose au niveau coronaire correspond au tableau clinique du syndrome coronarien aigu.

Par ces poussées évolutives, l'athérome représente la principale cause de morbidité et de mortalité des pays industrialisés.

Le mécanisme de développement de l'athérosclérose et de ses complications reste incomplètement connu. Le processus d'athérosclérose est tout de même reconnu comme la conséquence d'un grand nombre de facteurs génétiques et environnementaux. Les études de population ont permis de mettre en évidence des facteurs de risque dont la prise en charge permet de réduire l'incidence de la maladie.

Selon les résultats de l'étude Framingham, les facteurs de risque établis des cardiopathies ischémiques comprennent l'âge, le genre, l'hypertension, le tabac, le cholestérol total (CHT) ou le low-density-lipoprotein cholestérol (LDL), le high-density-lipoprotein cholestérol (HDL), l'hypertrophie ventriculaire gauche et le diabète (8). D'autres caractéristiques telles que antécédents familiaux de cardiopathies ischémiques, l'obésité mesurée par l'indice de masse corporelle (IMC) et le traitement hormonal de la ménopause (THM) n'ont pas fait la preuve de leur association causale avec les maladies cardiovasculaires. Ils sont pour le moins pris en compte comme facteurs d'ajustement dans les modèles analysant les évènements coronaires.

a. Rôle des lipides

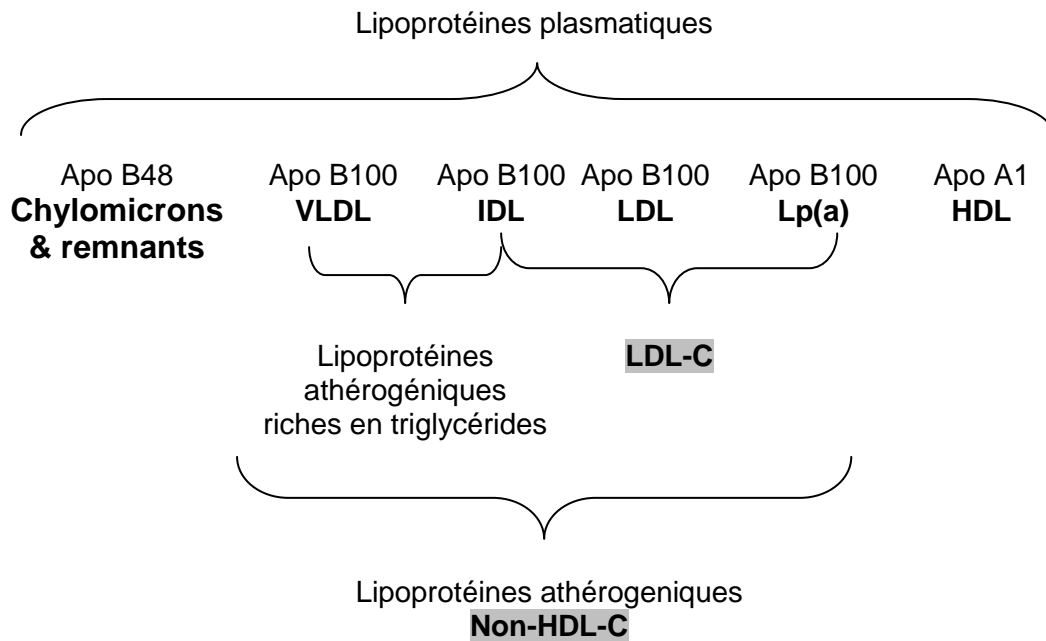
Ainsi, les lipides classiques que sont le LDL ou le CHT et le HDL sont considérés comme des facteurs de risque majeurs des cardiopathies ischémiques. Alors que le LDL est une estimation de la masse du cholestérol contenu dans les fractions de LDL uniquement, la valeur d'apolipoprotéine B (apoB) est une mesure de toutes les particules athérogéniques incluant les LDL, les Intermediate Density Lipoproteins (IDL), les Very Low Density

Lipoproteins (VLDL) (voir figure 2). En effet, chacune de ces particules contient une molécule d'apoB. Les apolipoprotéines sont des protéines qui se lient aux lipides pour former les lipoprotéines hydrosolubles qui permettent le transport de cholestérol dans le sang. D'après les résultats de AD Sniderman, le taux plasmatique d'apoB représente le total des particules athérogéniques (9). Le risque d'athérosclérose apparaît comme étant directement lié aux nombres de particules athérogéniques circulantes, ce qui suggère que l'apoB serait un meilleur prédicteur de risque d'athérosclérose que la concentration de LDL. De même, le nonHDL cholestérol (nonHDL), calculé en soustrayant le HDL au cholestérol total, représente le cholestérol contenu dans toutes les lipoprotéines athérogéniques incluant le LDL les VLDL et IDL, ces deux dernières étant les lipoprotéines riches en triglycérides (voir figure 2).

L'apolipoprotéine A-I (apoA) est contenu dans les particules de HDL. Sa concentration est fréquemment basse lorsque le HDL est réduit. Contrairement au HDL, l'apoA montre plusieurs rôles physiopathologiques : elle guide le transport reverse du cholestérol, elle est un antioxydant et un anti-inflammatoire et elle soutient la production d'oxyde nitrique (10).

L'intérêt majeur des apolipoprotéines réside dans le fait que leur dosage ne nécessite pas un prélèvement effectué à jeûn.

Figure 2 : Composition des différentes lipoprotéines



Lipides classiques = LDL-C et HDL

Non-HDL regroupe VLDL, IDL, LDL et Lp(a)

b. Rôle de l'inflammation

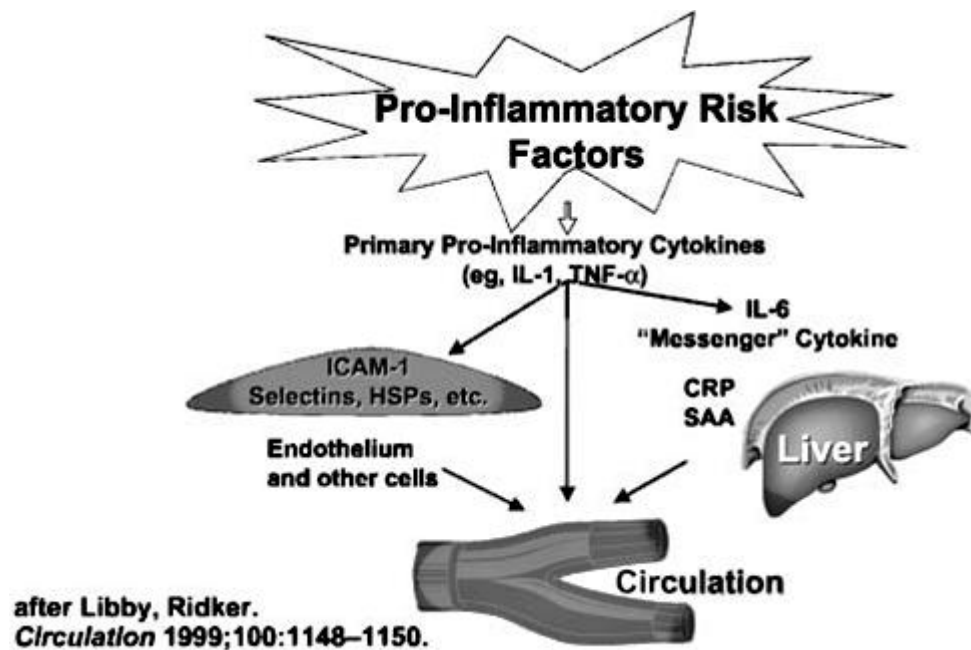
Depuis deux décennies, de nombreuses preuves indiquent que l'inflammation est un mécanisme pathogénique clé du développement et de la progression de l'athérosclérose (11-12). Les interactions cellulaires dans l'athérogénèse ne sont pas fondamentalement différentes de celles des maladies chroniques inflammatoires et fibroprolifératives comme la cirrhose, la polyarthrite rhumatoïde, etc. Schématiquement, la plaque d'athérosclérose comporte tous les signes histologiques d'une inflammation chronique non suppurée : une destruction tissulaire (athérome), un infiltrat lympho-monocytaire, une prolifération tissulaire (cellules musculaires lisses et néovascularisation) et une production de tissu conjonctif

(sclérose conjonctive). Les cellules inflammatoires sont présentes à tous les stades d'évolution de l'athérosclérose et se caractérisent par de multiples aspects d'activation tels que l'expression de marqueurs cellulaires de surface ou la sécrétion de molécules biologiquement actives.

Tout en jouant un rôle dans la formation et la progression de l'athérome, les processus inflammatoires actifs peuvent aussi contribuer à précipiter certains événements comme la déstabilisation et la rupture de plaques.

Le processus d'inflammation est complexe et incomplètement compris : on parle de cascade inflammatoire (voir figure 3). Cette cascade inflammatoire est initiée au moment où les cytokines inflammatoires comme l'interleukine 1 (IL-1) et le facteur tissulaire onconécrosant (Tumor Necrosis Factor ou TNF) α sont libérés des tissus inflammés (13). Ceci aboutit à la libération d'IL-6, la cytokine qui est responsable de l'induction de la production par le foie des protéines de la phase aiguë. Un large panel de protéines est ainsi synthétisé incluant une augmentation de la synthèse et de la libération de protéine C-réactive (CRP) et une plus faible augmentation de la synthèse d'autres protéines comme le fibrinogène, et l'inhibition d'autres protéines comme l'albumine. De plus, les cellules T activées sécrètent de l'interféron (IFN) γ qui peut modifier la synthèse de collagène. Les macrophages et les cellules musculaires lisses activées par les médiateurs inflammatoires comme les cytokines peuvent synthétiser des enzymes qui affaiblissent les tissus de la chape fibreuse de la plaque d'athérosclérose avec pour conséquence un risque accru de rupture de la plaque d'athérome.

Figure 3 : La cascade inflammatoire.



Légende : IL indique interleukine, ICAM signifie molécule d'adhésion intercellulaire, et HSP signifie protéine de choc thermique

Le dosage d'une large part des protéines secrétées au cours de la cascade inflammatoire est maintenant possible. Parmi celles-ci, le dosage de la CRP ultrasensible (CRP-US) est facile, standardisé et peu coûteux.

L'inflammation systémique et les lipides constituant deux piliers majeurs du développement de l'athérosclérose, nous nous sommes intéressés dans cette thèse aux associations respectives de la CRP-US et des marqueurs lipidiques avec le risque de cardiopathies ischémiques en population chez la personne âgée autonome.

3. Associations entre lipides, marqueurs de l'inflammation et cardiopathies ischémiques dans la population d'adultes d'âge moyen

a. Lipides et cardiopathies ischémiques

* Lipides classiques

Les investigations épidémiologiques en population incriminent le haut niveau de LDL comme étant athérogénique. Dans les études en population, le cholestérol total sérique est un bon marqueur du niveau de LDL. Dans l'étude de Framingham, un lien direct entre le niveau de LDL (ou cholestérol total) et l'incidence des cardiopathies ischémiques est mis en évidence chez les hommes et les femmes (8). L'association positive entre niveau sérique de cholestérol et développement d'un premier événement coronaire est observée dans une large gamme de niveau de LDL : le niveau le plus haut correspondant à un plus haut risque (14). Les inhibiteurs de l' HMGCoA réductase ou statines, qui ont pour effet de diminuer le niveau de cholestérol et de stabiliser la plaque d'athérosclérose, montrent leur efficacité dans de nombreux essais cliniques randomisés et méta-analyses (15-16), renforçant ainsi l'hypothèse de causalité entre haut niveau de LDL et risque de cardiopathies ischémiques.

De solides preuves épidémiologiques lient un faible taux de HDL à l'augmentation de la morbidité et de la mortalité par cardiopathies ischémiques (8, 17). A l'inverse, un taux élevé de HDL réduit le risque de cardiopathies ischémiques. Ainsi, une augmentation du taux de HDL de 0,03 mmol/L peut réduire le risque cardiovasculaire de 2-3% par année (17). Ces données épidémiologiques montrent aussi que le HDL est un facteur de risque indépendant des cardiopathies ischémiques. Cependant, à ce jour, aucune molécule intervenant sur la concentration de HDL ne montre une efficacité sur la réduction du risque de survenue des cardiopathies ischémiques (18).

L'association entre triglycérides (TG) et risque de maladies coronaires est controversée. En effet, différentes études prospectives épidémiologiques rapportent des associations positives entre concentration circulante de TG et risque de cardiopathies ischémiques, mais qui disparaissent en analyse multivariée et surtout après ajustement sur le HDL et le LDL (19). Des facteurs de risque non lipidiques comme l'obésité, l'hypertension, le diabète et la consommation de tabac sont reliés au niveau de TG. La controverse est retrouvée aussi au niveau des essais cliniques randomisés étudiant l'effet de la diminution des TG via l'utilisation des fibrates sur le risque de cardiopathies ischémiques (20-21). Cette discordance peut être expliquée par l'effet de la plupart des thérapies abaissant les TG sur les autres marqueurs lipidiques comme les concentrations de nonHDL et de HDL. Les résultats d'une récente métaanalyse utilisant la randomisation mendélienne (dont le concept sera décrit en page 94) suggèrent que l'association entre TG et cardiopathies ischémiques est médiée par le LDL ou le nonHDL (22).

* Apolipoprotéines et nonHDL cholestérol

Les premières études prospectives en population évaluant les associations entre concentrations sériques d'apolipoprotéines et cardiopathies ischémiques aboutissent à des résultats contradictoires. Une des raisons évoquées est la méthode d'analyse biologique et les valeurs de référence qui ne sont pas standardisées dans ces études (23). Les mesures des apolipoprotéines sont standardisées par l'International Federation of Clinical Chemistry grâce à une méthode automatisée et ne nécessitant pas de prélèvement à jeûn (24). Les études prospectives épidémiologiques plus récentes rapportent des associations positives entre concentration circulante d'apoB, d'apoA ou du rapport apoB/apoA et risque de cardiopathies ischémiques dans des populations d'âges divers (10, 25-27). Parmi les femmes ménopausées, PM. Ridker *et al* trouvent des associations équivalentes entre nonHDL, le ratio CHT/HDL et apolipoprotéines avec les événements cardiovasculaires (28).

Dans l'étude PRIME incluant exclusivement des hommes d'âge moyen, toutes les fractions de HDL testées sont associées aux événements coronaires. Parmi celles-ci, l'apoA présente l'association la plus forte (23).

Les instances de santé recommandent une approche basée sur le LDL pour suivre l'efficacité thérapeutique des traitements hypolipémiants, excluant les apolipoprotéines de la routine clinique. En 2002, l' Adult Treatment Panel III (ATP III) du National Cholesterol Education Program (NCEP) réaffirme sa position antérieure c'est-à-dire que le LDL reste la cible thérapeutique privilégiée (29). Il reconnaît en même temps l'augmentation du risque avec l'hypertriglycémie et le syndrome métabolique et introduit le nonHDL comme seconde cible thérapeutique. Les recommandations de l'AFSSAPS concernant la prise en charge du patient dyslipidémique, ne considèrent que le LDL comme cible thérapeutique (30). Une récente métaanalyse montre que le nonHDL est une cible thérapeutique appropriée (31). Dans cette métaanalyse, la diminution du risque d'événements coronaires est proportionnelle à la diminution du nonHDL et ceci de manière similaire parmi les sujets recevant des statines ou des fibrates. Il paraît donc intéressant d'étudier les associations entre apolipoprotéines, nonHDL et cardiopathies ischémiques et d'en évaluer l'utilité par rapport aux lipides classiques. Ces associations sont aussi à évaluer chez les personnes traitées par hypolipémiant, ce qui permettrait d'explorer le risque résiduel lié aux lipides dans cette population.

b. Marqueurs de l'inflammation et cardiopathies ischémiques

Des recherches récentes ont permis d'identifier plusieurs marqueurs possibles que les cliniciens peuvent utiliser pour dépister l'inflammation et suivre son évolution. On trouve

parmi ces marqueurs la CRP, l'interleukine 6 (IL6), le TNF- α , la Lipoprotein Phospholipase A2 (Lp-PLA2).

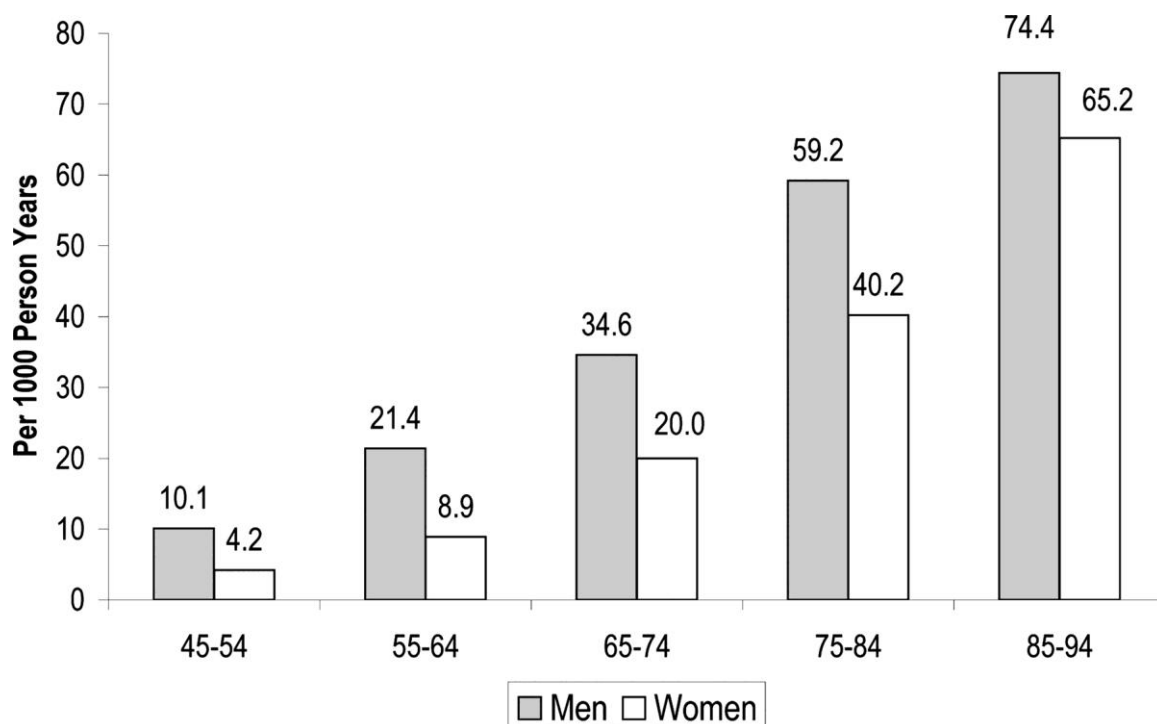
Parmi les protéines inflammatoires potentiellement liées au risque vasculaire, la CRP-US est sans aucun doute la plus étudiée actuellement sur le plan épidémiologique. Il s'agit d'un marqueur circulant de la phase aiguë de l'inflammation et son taux est facilement mesurable dans le sang par des techniques fiables et peu onéreuses. Elle est décrite comme étant un marqueur de l'inflammation vasculaire qui caractérise le développement de l'athérosclérose (32). Les résultats de plusieurs cohortes prospectives recrutant de nombreux sujets d'âge moyen et en apparente bonne santé indiquent qu'une concentration élevée de CRP-US est un marqueur indépendant du risque de cardiopathies ischémiques (33-35). Ces résultats sont confirmés par une méta-analyse (36). Se basant sur ces données, les institutions de santé américaines préconisent l'ajout de la concentration de la CRP-US aux facteurs de risque dits traditionnels pour l'évaluation du risque de cardiopathies ischémiques en suggérant que les personnes avec un niveau de CRP-US supérieur à 3 mg/L sont considérées à haut risque (37). Cependant, comme on le discutera plus loin dans cette thèse, la causalité de la relation entre CRP-US et cardiopathies ischémiques est très discutée et peu probable (38). De fait, la CRP-US n'est probablement pas un facteur de risque mais un indicateur de l'activation inflammatoire associée au développement des maladies athérosclérotiques.

4. L'athérosclérose et les cardiopathies ischémiques chez les personnes âgées

a. Influence de l'âge sur l'incidence des cardiopathies ischémiques

Le lien entre âge et risque de cardiopathies ischémiques est illustré sur la figure 4 où l'on voit par exemple, l'incidence des maladies cardiovasculaires chez les hommes multipliée par 7 entre la classe 45-54 ans et la classe 85-94 ans.

Figure 4 : Incidence des maladies cardiovasculaires par âge et sexe (FHS, 1980–2003).



Tiré de Heart Disease and Stroke Statistics—2010 Update, Circulation 2010;121:e46-e215

Légende : maladies cardiovasculaires = cardiopathies ischémiques, insuffisance cardiaque, accident vasculaire cérébral et claudication intermittente

L'existence d'un lien exponentiel entre l'âge et le risque de cardiopathies ischémiques résulte de la combinaison probable de l'artériosclérose (définie au paragraphe I/1/b) et d'une exposition cumulée dans le temps aux facteurs de risque. Ainsi, le nombre absolu d'évènements et de décès cardiovasculaires qui peuvent être théoriquement prévenus chez les personnes âgées sont substantiels bien que la réduction du risque relatif peut être faible : c'est ce qu'on appelle le paradoxe gériatrique.

b. Etude des déterminants des cardiopathies ischémiques dans une population de personnes âgées

L'état de santé de la majorité des personnes âgées se caractérise par la coexistence, chez un même individu, de multiples affections plus ou moins sévères. Certaines de ces affections peuvent résulter du vieillissement, de séquelles de maladies anciennes, ou encore de maladies chroniques en cours. Le poids de ces maladies chroniques, ou comorbidités, ainsi que la polymédication qui en découle augmentent progressivement avec l'avancée en âge. En épidémiologie, les séquelles des maladies anciennes, les comorbidités et la polymédication peuvent influencer sur les relations attendues entre covariables et maladies, notamment dans le contexte des cardiopathies ischémiques. Se pose donc la question de la généralisation chez le sujet âgé des facteurs de risque mis en évidence chez l'adulte. Cette question est encore mal connue et sera abordée dans cette thèse.

En effet, peu d'études évaluent dans la population de personnes âgées les associations entre les facteurs de risque dits traditionnels et les évènements coronaires (39-40). D'après ces études, ces associations sont plus faibles que chez l'adulte d'âge moyen. Par exemple, le CHT et le LDL sont des prédicteurs plus faibles chez les personnes âgées. Les études évaluant les déterminants des pathologies cardiovasculaires chez la personne

âgée sont majoritairement anglo-saxonnes. Il est donc important d'étudier les facteurs de risque des cardiopathies ischémiques dans cette population dans une étude française.

c. Lipides standards, apolipoprotéines, biomarqueurs de l'inflammation et risque de cardiopathies ischémiques chez les personnes âgées

* Lipides classiques, apolipoprotéines et traitements hypolipémiants

Peu d'études évaluent les relations entre lipides classiques et cardiopathies ischémiques chez la personne âgée et elles rapportent des résultats contradictoires (39-41). Concernant les apolipoprotéines, une association significative des apolipoprotéines est mise en évidence dans l'étude Whitehall (42).

Depuis la fin des années 90, les statines sont prescrites plus fréquemment aux personnes âgées en se basant sur les résultats de l'étude PROSPER évaluant l'efficacité de la pravastatine chez la personne âgée à haut risque cardiovasculaire (43). La collecte de données fiables sur la prise de médicaments dans la population des Trois Cités nous donne l'opportunité d'étudier les relations entre lipides et maladies coronaires dans une population de personnes âgées selon la prise ou pas d'un traitement hypolipémiant et selon sa nature (statines ou fibrates), en prévention primaire. Si l'on observe que les lipides restent prédictifs des cardiopathies ischémiques malgré une thérapie par statines ou fibrates (risque résiduel), on pourra soulever la problématique de l'intérêt d'une thérapie intensive par statines chez la personne âgée.

* CRP-US

Relativement peu d'études évaluent l'association entre la CRP-US et les cardiopathies ischémiques chez la personne âgée (44-49). De plus, ces études montrent des résultats discordants entre elles. La plupart de ces études sont conduites dans des pays à forte incidence de cardiopathies ischémiques et incluent peu de sujets très âgés (plus de 80 ans). En effet, seule la population recrutée dans la Cardiovascular Health Study présente une large étendue d'âge à partir de 65 ans. Les sujets de la Health ABC study sont des sujets âgés de 70 à 79 ans. Les trois autres études citées recrutent des femmes et/ou des hommes de plus de 55 ans. Par ailleurs, les personnes âgées présentent une forte prévalence d'athérosclérose subclinique : dans la Cardiovascular Health Study, une athérosclérose subclinique était présente chez 54% des participants sans antécédents de pathologies cardiovasculaires (50). Dans l'analyse de la relation entre CRP-US et cardiopathies ischémiques chez les sujets âgés menée dans cette thèse, il s'agira de tenir compte de cette athérosclérose subclinique par des méthodes d'ajustement et/ou de stratification.

5. Utilité prédictive de nouveaux marqueurs de risque des cardiopathies ischémiques

L'identification des sujets à haut risque de maladies cardiovasculaires (« stratégie du haut risque ») constitue une approche complémentaire à la stratégie populationnelle (de masse) dans le domaine de la prévention primaire des cardiopathies ischémiques. Elle s'appuie notamment sur l'utilisation de modèles de prédiction qui permettent de classifier les sujets à risque modéré, intermédiaire ou élevé. Les recommandations internationales actuelles préconisent l'utilisation de ces modèles de prédiction pour orienter la stratégie de prévention à l'échelle individuelle. Ainsi, le niveau de risque estimé oriente la nature et l'intensité de la prévention et notamment la mise sous statines (30, 51). Plusieurs modèles de prédiction sont publiés dont le plus populaire est celui de Framingham (8). Ces modèles sont essentiellement développés en population adulte et leur validité chez la personne âgée reste à démontrer.

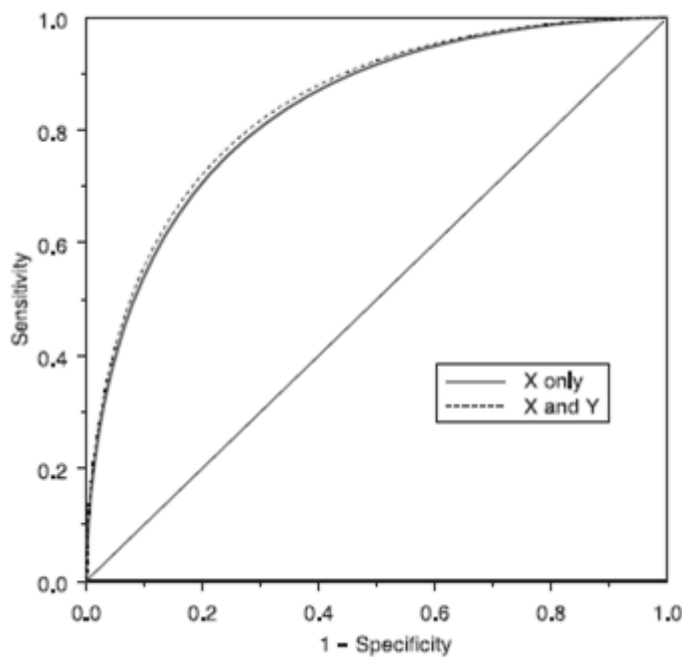
La possibilité d'améliorer les propriétés de ces modèles de prédiction, grâce notamment aux nouveaux biomarqueurs (sériques mais pas seulement) est un domaine de recherche en pleine expansion. Cette question est surtout développée chez la population d'âge moyen. Chez les sujets âgés, une étude récente américaine, la Cardiovascular Health Study, montre une contribution modérée de 13 biomarqueurs inflammatoires dont la CRP-US et l'IL6 à la prédiction individuelle basée sur les facteurs de risque traditionnels que sont le sexe et le rapport CHT/HDL (52). Dans l'étude de Leiden portant sur des sujets de 85 ans et plus, bien qu'associée aux cardiopathies ischémiques, la CRP n'améliore pas la prédiction du risque par rapport aux facteurs de risque usuels (53). La « valeur ajoutée » des apolipoprotéines par rapport aux lipides classiques est elle aussi très peu étudiée, y compris chez les sujets adultes d'âge moyen. On peut citer l'étude de Framingham, dont les sujets

sont âgés de 30 à 74 ans, qui ne montre pas d'amélioration de la prédiction du risque par les apolipoprotéines par rapport aux lipides classiques (54).

Sur le plan méthodologique, les conclusions de ces études antérieures sont essentiellement basées sur l'utilisation des courbes ROC (Receiver Operating Characteristic) comme méthode de discrimination (cf ci-dessous), dont les limites sont décrites (55).

Dans le cadre de la prédiction du risque cardiovasculaire, un modèle enrichi de un ou plusieurs nouveaux marqueurs de risque est plus sensible que le modèle dit basique s'il affecte une probabilité d'événement plus grande aux sujets qui font effectivement un événement par rapport à ceux qui en restent indemnes. Inversement, ce nouveau modèle est plus spécifique s'il affecte une probabilité d'événement plus faible aux sujets qui ne développent pas l'événement par rapport à ceux qui le développent. Une des méthodes les plus populaires de discrimination et qui combine les mesures de sensibilité et de spécificité pour différents niveaux de seuil de décision est représentée par l'établissement des courbes ROC (Receiver Operating Characteristic), un graphique représentant la sensibilité en fonction de 1- spécificité (voir figure 5). Dans cette figure, la discrimination du modèle basique (X only) est comparée à celle d'un modèle enrichi (X and Y).

Figure 5 : Courbe ROC



L'aire sous la courbe est aussi appelée c-statistique ou c-index et peut prendre des valeurs de 0,5 (pas de discrimination) à 1 (discrimination parfaite). Il est possible de comparer la valeur du c-index du modèle contenant X et Y à la valeur du c-index du modèle contenant X seulement pour évaluer l'amélioration de la discrimination par l'ajout de Y au modèle. La courbe ROC n'utilise pas les probabilités estimées et n'est donc pas sensible aux différences de probabilités entre les modèles. Elle est de plus peu sensible pour détecter des améliorations faibles mais significatives apportées par de nouveaux marqueurs de risque (55).

Une extension des courbes ROC adaptée aux données censurées est représentée par le C de Harrell. Sa définition est détaillée dans cette thèse au paragraphe Méthodes (voir III/3).

De nouvelles méthodes de discrimination sont développées notamment par l'équipe de Pencina et d'Agostino à Boston, permettant d'évaluer la valeur ajoutée de nouveaux biomarqueurs (56). Ces méthodes quantifient la proportion et le sens de la reclassification (adéquate ou non) des cas et des non cas apportés par le modèle enrichi par rapport au modèle de base. Cette analyse suppose l'existence de catégories de risque définies au préalable. L'indice le plus populaire est le Net Reclassification Improvement (NRI). Cette méthode présente l'intérêt d'être facilement interprétable sur le plan clinique. D'autres indices de discrimination comme notamment le Integrated Discrimination Improvement ou IDI (qui repose sur des différences de probabilités estimées par les 2 modèles comparés) ne sont pas présentés ici.

Les propriétés d'un modèle de prédiction sont décrites par sa calibration et sa capacité de discrimination. Dans cette thèse, nous nous concentrons sur la discrimination. Deux méthodes de discrimination sont utilisées, celle du C de Harrell et celle du NRI, pour évaluer l'utilité prédictive de chacun des marqueurs étudiés, à savoir la CRP-US, les lipides classiques et les apolipoprotéines.

II. Objectifs

Dans l'étude des Trois Cités, un panel de nouveaux biomarqueurs est mesuré au sein d'une étude cas-cohorte. Il s'agit notamment de la CRP-US et des apolipoprotéines AI et B100. Les marqueurs lipidiques classiques sont mesurés dans l'ensemble de la cohorte.

Ainsi, le but de la thèse est d'évaluer de façon prospective chez la personne âgée non institutionnalisée et exempt de maladie cardiovasculaire à l'inclusion :

(1) l'association des cardiopathies ischémiques incidentes avec

- la concentration initiale de CRP-US pris comme marqueur inflammatoire

- la concentration initiale des lipides classiques et les apolipoprotéines, chez les sujets non traités par hypolipémiant, chez les sujets traités par fibrates et chez les sujets traités par statines

(2) la capacité des apolipoprotéines ou du nonHDL cholestérol à améliorer la prédiction du risque d'évènements coronaires incidents par rapport aux facteurs de risque traditionnels non lipidiques.

L'ensemble de ces questions sera abordé dans le cadre d'une étude cas-cohorte construite au sein de l'étude des Trois Cités qui est décrite au paragraphe suivant.

III. Méthodes

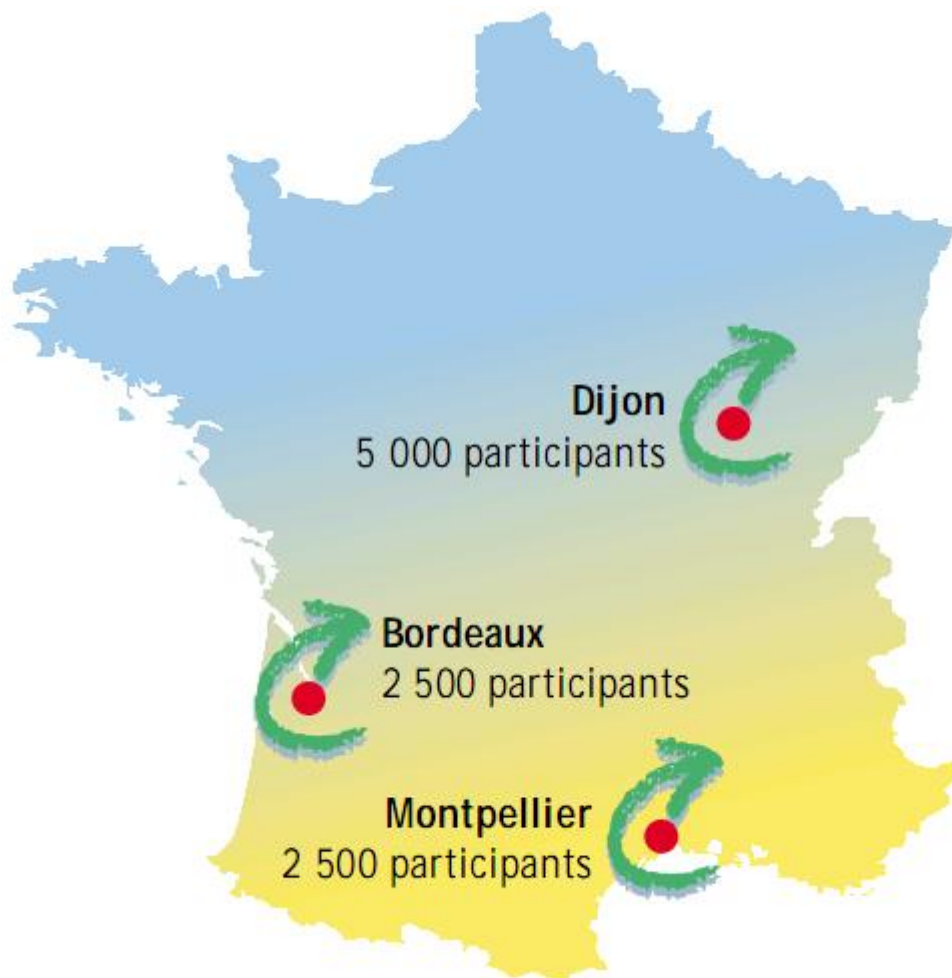
1. L'étude des Trois Cités

Il s'agit d'une étude de cohorte française, prospective, multicentrique, dont les objectifs sont d'étudier les déterminants des cardiopathies ischémiques, des maladies cérébrovasculaires et des démences, chez le sujet âgé non-institutionnalisé (57). Cette étude inclut 9294 hommes et femmes volontaires de 65 ans et plus sélectionnés sur les listes d'électeurs des villes de Bordeaux, Dijon et Montpellier entre mars 1999 et mars 2001. Après un examen initial, la morbi-mortalité vasculaire des volontaires est surveillée tous les 2 ans pendant 6 ans. A l'issue des 4 ans de suivi, une étude cas-cohorte (décrite ci-après) est mise en place pour l'étude de biomarqueurs non conventionnels.

a. Modalités de recrutement

Les participants sont recrutés parmi la population non institutionnalisée de personnes de plus de 65 ans. Ils sont sélectionnés sur listes électorales de 3 villes françaises : Bordeaux dans le Sud-Ouest, Dijon dans le centre, et Montpellier dans le Sud-Est (voir figure 6).

Figure 6 : Carte du recrutement dans l'étude des Trois Cités



Une lettre personnelle incluant une brève description du protocole et les invitant à participer à l'étude est adressée à chaque sujet potentiel. L'époux(se) ou partenaire est invité(e) à participer à l'étude s'il correspond aux critères d'inclusions. Le taux de participation est de 37% et un total de 9294 sujets de 65 ans et plus acceptent de participer à cette étude. Le protocole est approuvé par le Comité de Consultation de Protection des Personnes se prêtant à la Recherche Biomédicale de l'hôpital universitaire de Bicêtre. Chaque participant signe un consentement libre et éclairé et peut refuser de participer à une

partie de l'exploration (comme l'échantillon sanguin par exemple) sans que cela ne constitue un critère d'exclusion.

b. Questionnaire initial

L'organisation pratique des différentes composantes de la collection de données varient légèrement entre les centres. A Bordeaux et Dijon, les participants sont d'abord examinés à domicile pour l'entretien et les tests cognitifs. Ils sont ensuite invités au centre d'examen de l'étude (un centre médical communautaire à Dijon et un centre mobile dans un véhicule spécialement équipé à Bordeaux) pour compléter les autres parties du protocole. Ceux qui refusent de se rendre au centre d'étude reçoivent une seconde visite à domicile. A Montpellier, il est demandé à tous les sujets de prévoir une demi-journée pour l'exploration qui a lieu dans une clinique de recherche établie dans un hôpital régional de neurologie. Les questionnaires et les examens sont effectués au domicile du sujet si celui-ci est incapable de se déplacer ou refuse de venir au centre d'examen.

A l'inclusion, comme à chacun des examens de suivi, les données sont recueillies au moyen d'un questionnaire administré lors d'un entretien en face à face par des infirmières ou psychologues spécialement formés. De nombreuses informations sont collectées. Celles-ci comprennent des données sur les caractéristiques démographiques, le niveau d'éducation et socioéconomique, les loisirs, les habitudes de vie comme les consommations de tabac et d'alcool, les habitudes alimentaires, les antécédents médicaux. Le critère « antécédents de maladie cardiovasculaire » est défini comme la déclaration d'une hospitalisation pour infarctus du myocarde, une angioplastie transluminale, un pontage coronarien ou une hospitalisation pour AVC. Par ailleurs, une large batterie de tests et échelles classiques est utilisée pour évaluer les fonctions cognitives, la symptomatologie dépressive et anxieuse, le handicap. Les participants sont invités à apporter au centre d'étude toutes leurs

ordonnances et médicaments utilisés durant le mois avant l'entretien. Les noms des médicaments sont inscrits dans le questionnaire et sont codés selon la classification ATC (Anatomique, Thérapeutique et Chimique). Pour les femmes, l'entretien comprend une partie plus précise concernant le traitement hormonal de la ménopause : quel traitement, dosage et durée. L'équipe de C Dufouil montre récemment sur un sous échantillon de l'étude des Trois Cités (3C) que le taux de concordance entre l'utilisation déclarée d'hypolipémiants et les données extraites de la base de la Sécurité Sociale est de 92% (58).

c. Examens physiques initiaux

L'examen clinique comprend plusieurs mesures de la pression artérielle diastolique et systolique. La pression artérielle de tous les participants est mesurée à deux reprises, avant et après le questionnaire en utilisant un tensiomètre électronique (OMRON M4). Le protocole de la deuxième mesure étant différent entre les trois centres, seule la première est utilisée dans l'analyse statistique. Les investigateurs mesurent aussi le poids, la taille et d'autres paramètres anthropométriques et le rythme cardiaque. A partir de ces données d'examens physiques, l'hypertension est définie comme une pression artérielle systolique supérieure à 140 mmHg ou une pression artérielle diastolique supérieure à 90 mmHg ou la prise d'un traitement antihypertenseur. La notion de « diabète ou intolérance au glucose » est définie comme une valeur de glycémie supérieure ou égale à 6,1 mmol/L. L'IMC est calculé à partir des données de taille et poids des sujets.

Concernant les données biologiques, 94% des participants acceptent le prélèvement sanguin pour la mesure des paramètres biologiques à l'inclusion ainsi que la constitution d'une biothèque (sérum, plasma et ADN) conservée à -80°C. Les 6% de sujets n'ayant pas de prélèvements sanguins présentent les mêmes caractéristiques socioéconomiques et cardiovasculaires à l'exception de l'âge (un peu plus âgés) que les personnes acceptant le

prélèvement. La mesure initiale des paramètres biologiques telles que glycémie, CHT, HDL, TG et créatinémie, est réalisée de manière centralisée au laboratoire de biochimie du centre hospitalier universitaire de Dijon. La concentration des LDL est estimée par la formule de Friedewald pour les sujets dont la concentration de TG est inférieure à 4,5g/L (5,08 mmol/L).

Une échographie carotidienne et un électrocardiogramme sont proposés aux participants de moins de 85 ans. Au total, les mesures carotidiennes sont réalisées chez 73% des sujets de moins de 85 ans (n=6612). Les enregistrements des examens échographiques sont adressés au centre de médecine préventive cardiovasculaire de l'hôpital Broussais (Pr. A. Simon, Dr J. Gariépy), où sont effectuées les mesures de l'épaisseur intima-média, des plaques et de la distensibilité. L'exploration consiste en un balayage de l'artère commune carotidienne, de la bifurcation carotidienne et de l'origine de l'artère carotide interne des carotides droites et gauches (59). La présence de plaque est visualisée sur ces segments. La mesure moyenne de l'épaisseur de l'intima media est mesurée dans une zone en absence de plaque au niveau de la carotide commune deux à trois centimètres en dessous de la bifurcation carotidienne.

d. Caractéristiques générales initiales

Entre mars 1999 et mars 2001, 9294 hommes et femmes acceptent de participer à l'étude des Trois Cités dont 2104 sujets de Bordeaux, 4931 de Dijon et 2259 de Montpellier. L'âge moyen est de 74,3 ans (écart-type : 5,6 ans). La répartition par classe d'âge globalement et par centre est présentée dans le tableau 2 (60).

Tableau 2 : Répartition de la population de l'étude des Trois Cités par classes d'âge à l'inclusion et par centre.

	CENTRES			Total
	Bordeaux	Dijon	Montpellier	
<70 ans, n(%)	393 (19)	1092 (22)	663 (29)	2148 (23)
≥70 ans et <75 ans, n(%)	688 (33)	1525 (31)	777 (35)	2990 (32)
≥75 ans et <80 ans, n(%)	643 (30)	1407 (29)	493 (22)	2543 (27)
≥80 ans et <85 ans, n(%)	307 (15)	556 (11)	212 (9)	1075 (12)
≥85 ans, n(%)	73 (3)	351 (7)	114 (5)	538 (6)
Total	2104	4931	2259	9294

La figure 7 présente des caractéristiques socio-professionnelles à l'inclusion des participants et montre une hétérogénéité des caractéristiques selon le centre de recrutement.

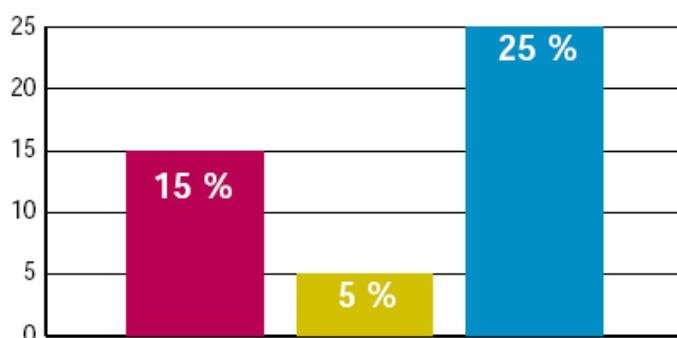
Cette hétérogénéité explique notamment le fait que nos analyses statistiques sont systématiquement ajustées sur le centre.

Figure 7 : Catégories socio-professionnelles par centre dans l'étude 3C

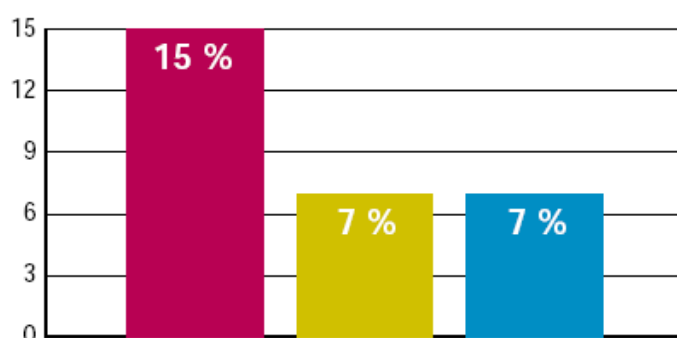
Comparaison entre les 3 villes

Bordeaux ■ Dijon ■ Montpellier ■

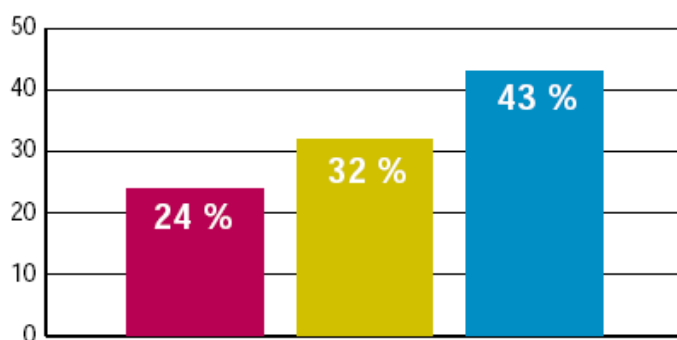
Participants nés hors de France :



Participants ayant fait des études courtes (niveau primaire) :



Participants au revenu mensuel supérieur à 2 290 euros (15 000 F) :



e. Suivi et recherche des évènements

La participation aux deux examens de suivi est satisfaisante. Au suivi à deux ans, 90% des personnes vivantes (261 décès) sont réexaminées et 7 % répondent à l'auto questionnaire ; les refus et perdus de vue ne représentent que 3% des inclus. Au suivi à quatre ans, le taux global de participation est de 92 % (examen complet ou auto questionnaire) ; il y a 8 % de refus ou perdus de vue.

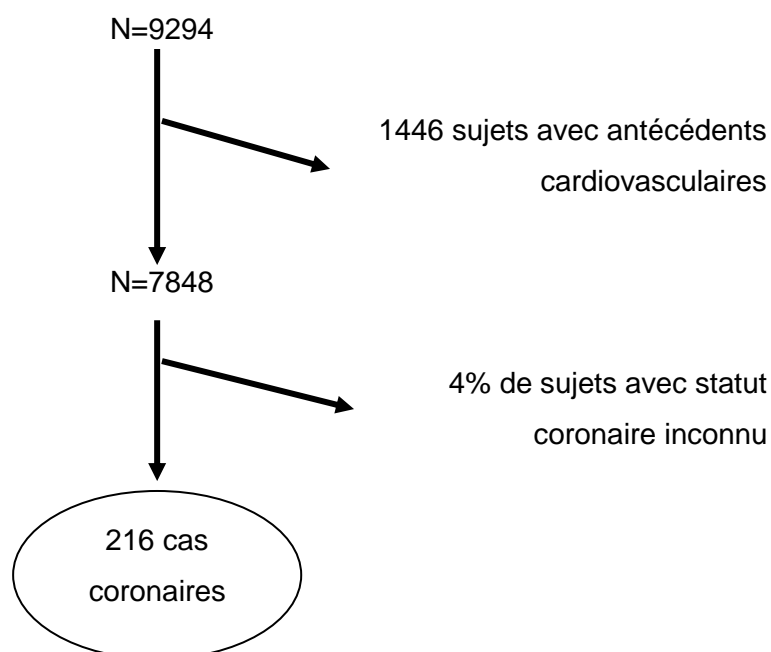
La validation des 3 diagnostics de l'étude des Trois Cités (démences, accidents vasculaires cérébraux, syndromes coronaires aigus) est réalisée par trois panels d'experts extérieurs à l'étude (60). La procédure est un peu différente en ce qui concerne les évènements coronaires et les AVC, d'une part, et les démences d'autre part. Pour les évènements coronaires qui sont le thème de cette thèse, dans chaque centre 3C, un médecin est chargé de documenter les évènements rapportés par les participants (contact avec les médecins traitants, comptes-rendus d'hospitalisation, etc.) Les informations recueillies sont transmises aux panels d'experts chargés d'établir les diagnostics sur la base de critères standardisés. En ce qui concerne les décès, ils sont codés par le centre de coordination, selon la 10^{ème} édition de la classification internationale des maladies (CIM-10), sur la base des informations fournies par le médecin traitant et/ou l'entourage. Seuls les décès de cause vasculaire (cardiaque ou cérébrale) et les morts subites font l'objet d'investigations complémentaires et d'une validation similaire à celles mises en œuvre pour les évènements vasculaires non létaux.

Les nombres d'évènements incidents observés au cours des quatre ans de suivi parmi les 7848 sujets sans antécédents cardiovasculaires étaient les suivants :

- 292 décès ;
- 238 démences ;

- 117 accidents vasculaires cérébraux dont 96 ischémiques et 15 hémorragiques (la cause de l'AVC est indéterminée pour 6 AVC);
- 216 syndromes coronaires aigus définis comme angor, angioplastie, infarctus du myocarde (170 évènements) et décès coronaire (46 évènements) (voir figure 8). Après 4 ans de suivi, le statut coronarien est connu pour 96% des sujets. Les 4% de sujets (n=414) dont le statut coronarien n'est pas connu sont plus vieux ($p<0,0001$), sont plus souvent des hommes ($p=0,034$), et diabétiques ($p=0,005$), ont un taux de HDL plus bas ($p=0,02$) et un taux plus élevé de TG ($p=0,02$).

Figure 8 : Schéma des effectifs utilisés dans la cohorte totale :



2. Le cas-cohorte dans l'étude des Trois Cités

a. Principes et définitions

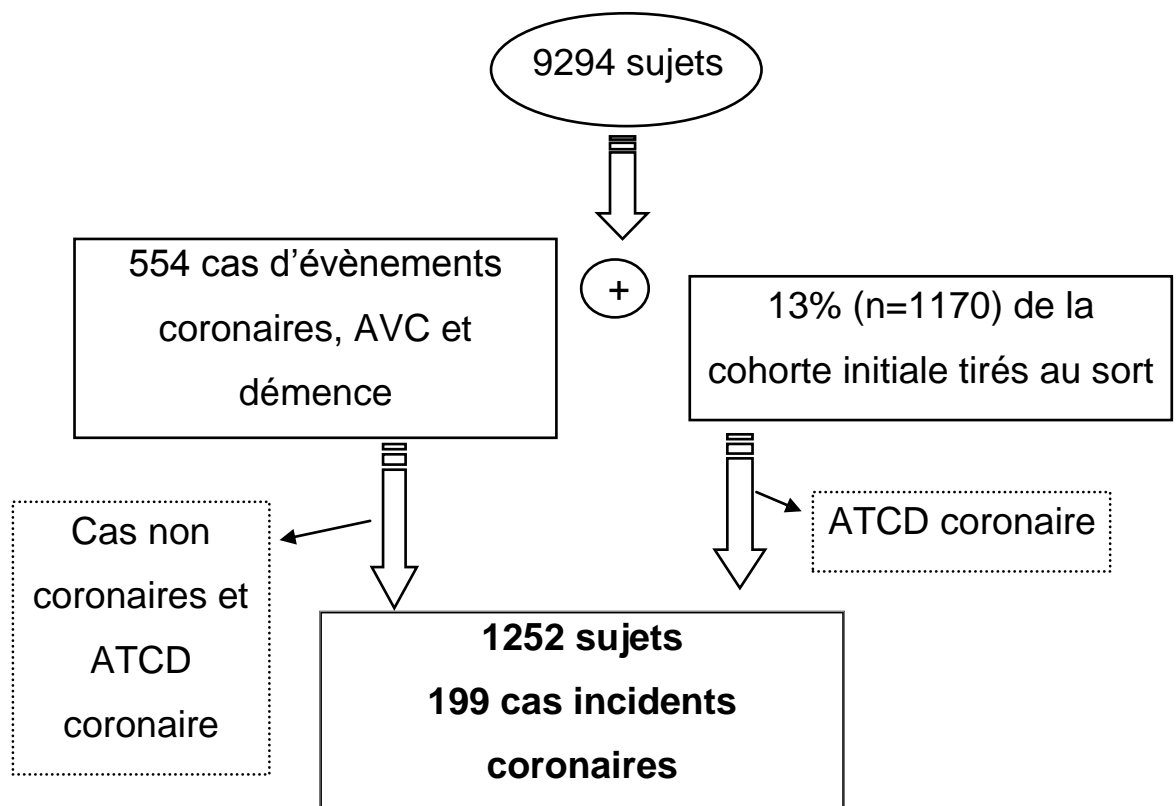
Toutes les analyses de ma thèse sont réalisées à partir du cas-cohorte de 3C mis en place après quatre ans de suivi. En effet, dans le cadre de l'étude des Trois Cités, le schéma du cas-cohorte est choisi pour le dosage des variables biologiques non conventionnelles. Ce terme de cas-cohorte est introduit par Prentice (61) pour décrire le schéma d'étude qui est un croisement entre l'étude de cohorte et l'étude cas-témoin, incluant les meilleures caractéristiques de chacune. L'intérêt principal du schéma du cas-cohorte réside dans l'économie de moyens par la réduction du nombre de sujets avec une perte marginale de puissance statistique. Ce schéma permet donc une économie en témoins car plusieurs événements peuvent être comparés au même pool de témoins constitué, la sous-cohorte. Contrairement au schéma cas-témoins, l'échantillonnage qui permet de constituer une sous-cohorte est réalisé a priori sans regard sur le statut de cas ou la durée d'étude. Enfin, un des avantages du schéma cas-cohorte, par rapport au cas-témoin, est de pouvoir tenir compte du temps de suivi.

Conceptuellement, le sous-échantillon tiré au sort à l'aveugle du statut « malade » est un sous échantillon représentatif de la cohorte initiale. Il est appelé « sous-cohorte » et est désigné comme la source de comparaison des observations. Puis tous les événements sont inclus qu'ils soient compris ou non dans l'échantillon tiré au sort. L'économie de moyens concernant les données est réalisée par la possibilité d'enrichir la base de cas avec une sous-cohorte fixe considérée comme groupe « contrôle ». Comme la sous-cohorte est tirée au sort à l'aveugle du statut de l'évènement, différents temps de survie peuvent être utilisés avec le même groupe « contrôle ». En effet, un sujet de la sous-cohorte peut devenir cas en

étudiant une survie plus longue : il suffira de l'analyser en tant que sujet de la sous-cohorte jusqu'à un temps infime avant la date de l'évènement.

Dans l'étude des Trois Cités, le cas-cohorte est construit avec les évènements validés après 4 ans de suivi, soit au total 554 évènements (démences, AVC et/ou maladies coronaires). La sous-cohorte est constituée de 1170 sujets tirés au sort à partir de la cohorte initiale selon une fraction de sondage de 13% et à partir de strates définies par le centre, l'âge (par tranches de 5 ans), et le sexe. Les sujets du cas-cohorte doivent avoir accepté le prélèvement sanguin qui doit être exploitable. Pour le présent travail, les sujets présentant un antécédent de maladies coronaires à l'inclusion sont exclus ainsi que les cas non coronaires, (démence ou AVC). Ainsi, la population d'étude comprend une sous-cohorte de 1086 sujets sans antécédents personnels de cardiopathies ischémiques à l'inclusion. A cette sous-cohorte s'ajoutent 199 sujets qui ont développé un premier évènement coronaire pendant les quatre premières années de suivi (161 non fatals et 38 fatals) et pour qui un prélèvement sanguin est effectué et est exploitable. La sélection des participants et des effectifs du cas-cohorte coronaire sont présentés sur la figure 9.

Figure 9 : Schéma des effectifs du cas-cohorte coronaire



La sous-cohorte se compose de 413 hommes (38,1%) et l'âge moyen est de 73,7 ans (écart-type=5,3 ans).

b. Analyse de survie dans le contexte du cas-cohorte

Pour l'analyse des données de survie, l'approche semi-paramétrique à risques proportionnels du modèle de Cox est utilisée. L'analyse statistique des études « cas-

cohorte » tient compte du fait que la variance est modifiée par la surreprésentation des cas dans la mesure où certains cas sont inclus dans la sous-cohorte. Ainsi, la méthode de Barlow utilisée ici, applique pour calculer la vraisemblance un poids dépendant de la probabilité d'appartenir au cas-cohorte (62). Ce poids peut être approximé par l'inverse de la fraction de sondage pour les sujets de la sous-cohorte et est égal à un pour les cas qui sont tous inclus dans le cas-cohorte. Pour les cas appartenant à la sous-cohorte, on applique l'inverse de la fraction de sondage comme poids jusqu'à un temps infime avant apparition de l'évènement. Dès lors qu'ils deviennent cas, ils ont un poids de 1. Le temps de survie des cas non inclus dans la sous-cohorte est celui entre le début de l'étude et l'évènement. Pour ceux inclus dans la sous-cohorte, un premier temps de survie est considéré entre l'entrée dans l'étude et un temps infime avant l'évènement et un « deuxième » temps de survie est calculé entre un temps infime avant l'évènement et l'évènement. Les poids appliqués aux différents types de participants du cas-cohorte sont résumés dans le tableau 3. Cette méthode omet le tirage au sort effectué et minimise trop la variance des estimateurs de chaque variable utilisée dans le modèle de Cox. La variance des estimateurs doit donc prendre en compte l'incertitude associée à la sélection par tirage au sort pour les sujets de la sous-cohorte. Ceci peut être obtenu en appliquant la covariance sandwich dans le modèle de Cox.

Tableau 3 : Poids appliqué pour le calcul de la vraisemblance et temps de survie
calculé pour l'estimation des risques selon la méthode de Barlow.

Type de sujets	Poids appliqué	Temps de survie calculé
Sujets non-cas de la sous-cohorte	$1/\alpha$	Temps de participation
Cas non inclus dans la sous-cohorte avant l'évènement	0	Jusqu'à l'évènement
Cas non inclus dans la sous-cohorte au moment de l'évènement	1	
Cas inclus dans la sous-cohorte avant l'évènement	$1/\alpha$	Jusqu'un temps minime avant l'évènement
Cas inclus dans la sous-cohorte au moment de l'évènement	1	Entre un temps minime avant l'évènement et l'évènement

Dans le modèle de Cox nous prenons l'âge comme échelle de temps. En effet, l'âge est un fort déterminant de cardiopathies ischémiques ou des covariables étudiées. Dans une population de personnes âgées, le temps passé n'apporte pas la même information au risque en fonction de la tranche d'âge considérée. Autrement dit, le risque apporté par l'âge n'est pas le même à 70 ans qu'à 85 ans. Dans ce cas, il est souvent préférable d'utiliser l'âge comme échelle de temps plutôt que le temps de suivi dans l'analyse utilisant le modèle de Cox (63). A titre de comparaison, des résultats de modèle de Cox utilisant le temps comme échelle de temps seront exposés dans la partie résultats.

3. Place des biomarqueurs dans la prédiction individuelle du risque cardiovasculaire : méthode d'évaluation de la discrimination.

Pour évaluer l'utilité prédictive de la CRP-US et des lipides pour les cardiopathies ischémiques, deux méthodes de discrimination décrites ci dessous sont utilisées dans cette thèse : l'index C de Harrell et le Net Reclassification Improvement (NRI).

* Le calcul de l'index c de Harrell

La discrimination est la capacité d'un modèle de prédiction à dissocier les sujets qui font effectivement un événement de ceux qui n'en font pas. Dans le domaine de la prédiction individuelle, il s'agit plus précisément de la capacité du modèle à estimer des probabilités d'événement plus élevées chez ceux qui font effectivement un événement comparés à ceux qui n'en font pas. Mesurer la discrimination dans des analyses de survie est plus complexe et ambiguë que dans un modèle de régression logistique puisqu'il faut évaluer des temps de survie et les prédictions de ces temps de survie (cf ci-dessous). Dans le cas des analyses de survie, la discrimination doit évaluer si la mesure considérée satisfait le fait que les sujets avec un temps prédit plus long de survie survivent effectivement plus longtemps sans apparition de l'évènement d'intérêt. Un tel coefficient est suggéré par Harrell (64).

Dans le modèle de Cox, l'index C est défini comme la probabilité de concordance du temps de l'évènement selon la comparabilité des individus. La première étape est d'utiliser un modèle pour calculer les temps de survie « prédit » à l'entrée dans l'étude pour chaque sujet. A un temps T, il existe deux catégories de sujet : ceux qui présentent un évènement et ceux qui ne présentent pas d'évènement. Pour chaque sujet, on distingue les temps de survie observés (notés X) et les temps de survie calculés par prédiction (notés T). Considérons ensuite toutes les paires de sujets de la population que l'on peut appeler i, j, avec $i < j$. Une paire donnée est appelée concordante si les X et T des deux sujets « vont dans le même sens » c'est-à-dire $X_i < X_j$ et $T_i < T_j$ ou $X_i > X_j$ et $T_i > T_j$, la paire est appelée

concordante. D'après Harrell, il est possible dans un modèle d'analyse de survie de remplacer le temps de survie prédit (noté T) par la probabilité de survie prédite (notée Y). Ainsi une paire est dite concordante si $X_i < X_j$ et $Y_i < Y_j$ ou $X_i > X_j$ et $Y_i > Y_j$. Toutes les paires ne sont pas concordantes ou discordantes. Pour construire l'index c, on ne peut utiliser que les paires contenant au moins un évènement (évènement + évènement ou évènement + non évènement) : ces paires sont dites comparables. Harrell définit l'index c comme étant la proportion des paires concordantes parmi les paires comparables. On peut exprimer cet index en symboles :

$$\pi c = P(X_i < X_j \text{ et } Y_i < Y_j) + P(X_i > X_j \text{ et } Y_i > Y_j)$$

$$\pi d = P(X_i < X_j \text{ et } Y_i > Y_j) + P(X_i > X_j \text{ et } Y_i < Y_j)$$

Ainsi, l'index c est calculé par le rapport suivant :

$$C = \pi c / (\pi c + \pi d).$$

Tester la différence à 0 du C index de 2 modèles emboîtés, le modèle avec et sans biomarqueur(s) est une première méthode permettant de quantifier l'impact de(s) nouveau(x) biomarqueur(s) dans la prédiction individuelle. Ce test est expliqué dans le paragraphe « imputations des données manquantes ».

* Le Net Reclassification Improvement (NRI)

De nouvelles méthodes dites de reclassification sont proposées depuis peu permettant une approche peut être plus concrète de la discrimination. Elles reposent sur l'utilisation de catégories de risque définies a priori (le plus souvent catégories de risque de Framingham ou de SCORE dans le cadre de l'évaluation de risque cardiovasculaire) et consistent à évaluer si l'ajout d'un nouveau biomarqueur au modèle de prédiction « reclassifie » de manière adéquate les cas et les non cas. Pour les cas, une classification adéquate correspond à un mouvement des sujets vers des catégories à plus haut risque;

pour les non cas une classification adéquate correspond à un mouvement des sujets vers des catégories à plus bas risque. L'avantage de cette méthode tient dans sa simplicité non seulement de calcul mais également d'interprétation. L'indice de reclassification le plus utilisé actuellement est le NRI. Il se calcule séparément chez les cas et les non cas. Chez les cas, il correspond à la différence de proportions de cas migrant vers une catégorie de risque plus élevée et vers une catégorie de risque plus basse ; chez les non cas, comme la différence de proportions de non cas migrant vers une catégorie de risque plus basse et vers une catégorie de risque plus élevée. Le NRI global est la somme de ces 2 différences et peut donc s'écrire de la sorte :

$$\text{NRI} = [\text{Pr}(\text{plus fort/cas}) - \text{Pr}(\text{plus faible/cas})] + [\text{Pr}(\text{plus faible/non cas}) - \text{Pr}(\text{plus fort/non cas})].$$

$$\text{NRI} = \text{RI}_{\text{cas}} + \text{RI}_{\text{non cas}}$$

Avec RI= relative improvement ou amélioration relative

Le NRI est donc la somme des améliorations pour les cas et non cas. Cette amélioration peut être testée statistiquement (voir paragraphe suivant).

* Imputations des données manquantes

Pour pouvoir utiliser les modèles de prédiction et le c de Harrell, nous nous plaçons en conditions de cohorte complète. Or, si les données sont complètes sur l'ensemble de la cohorte pour les lipides classiques et leurs ratios, elles n'existent que pour les cas et les sujets de la sous-cohorte pour les apolipoprotéines A1 et B100. Une méthode d'imputation multiple est donc utilisée pour ces biomarqueurs mesurés uniquement pour les sujets du cas-cohorte. Ces imputations multiples sont réalisées en collaboration avec Helena Marti-Soler, doctorante dans l'équipe de biostatistique de M Chavance (U1018) spécialisée dans les modèles d'imputation (65). La première étape de cette méthode est de construire un modèle de prédiction qui prend en considération la structure de corrélation entre une variable

incomplète et des covariables liées à celle-ci, cette structure de corrélation étant estimée dans la partie complète des données (ici dans le cas-cohorte). Les valeurs manquantes ne sont pas remplacées par leur espérance mais par une valeur « tirée » de la distribution postulée par le modèle. Pour prendre en considération l'incertitude concernant les paramètres du modèle d'imputation, plusieurs imputations sont réalisées avec des paramètres tirés de la distribution asymptotique de leur estimateur obtenu à partir des observations complètes. L'imputation multiple permet aussi d'obtenir une estimation correcte de la variance d'un estimateur. Ainsi, un estimateur du paramètre d'intérêt ainsi qu'une estimation de sa variance sont obtenus à partir de chaque jeu de données complet. Avec 50% d'informations manquantes, 10 imputations aboutissent à une efficacité relative de 98%. Dans le design cas-cohorte, le pourcentage d'informations manquantes ne correspond pas au pourcentage d'observations incomplètes car les cas qui apportent beaucoup d'informations sont tous inclus. Ce pourcentage d'informations manquantes est estimé par le rapport variance inter-imputation sur la variance totale. Pour l'apoA par exemple, ce pourcentage est environ 15%. C'est pourquoi 10 imputations sont réalisées dans ce travail pour estimer les valeurs manquantes de chaque biomarqueur étudié dans la sous cohorte. Sous l'hypothèse d'une maladie rare et de covariables non dépendantes du temps, l'imputation multiple est réalisée au moyen d'un modèle linéaire généralisé. Les variables suivantes sont introduites dans ce modèle:

- les variables de stratification pour le tirage au sort des sujets de la sous cohorte, c'est-à-dire ici âge, sexe et centre,
- ainsi que les variables d'ajustement dans le modèle de Cox utilisées pour estimer les risques associés à chaque marqueur, soit l'IMC, la pression artérielle systolique, la prise de traitement antihypertenseur, le statut glycémique, la prise de traitement hypolipémiant

Avec cette approche, nous nous ramenons dans le contexte d'une étude de cohorte et nous pouvons donc estimer nos paramètres de discrimination, index c de Harrell et NRI. Ces deux paramètres de discrimination sont estimés sur les 10 pools d'imputations multiples réalisés pour chaque biomarqueur. Ainsi, les résultats qui seront présentés seront la moyenne des 10 paramètres estimés. Ces résultats seront exprimés avec une déviation standard obtenue à partir du calcul de variance.

La variance d'un paramètre θ estimé tel que le NRI ou la différence entre deux c de Harrell de deux modèles emboîtés différents est formée par deux composantes :

1/ Composante intra-imputations (WIM), estimée par la moyenne des M variances asymptotiques

2/ Composante inter-imputations (BIM), estimée à partir de la variance observée des M estimations

Selon la formule suivante :

$$\hat{V}(\hat{\theta}_{IM}) = \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M \hat{V}(\hat{\theta}_m) + (1 + M^{-1}) \frac{\sum_{m=1}^M (\hat{\theta}_m - \hat{\theta}_{IM})(\hat{\theta}_m - \hat{\theta}_{IM})'}{M - 1}$$

Où $(1+M^{-1})$ est un facteur d'ajustement d'utilisation d'un nombre fini d'imputations.

L'ensemble de ma thèse est menée dans le cadre de l'étude cas-cohorte mise en place à l'issue des 4 ans de suivi. Elle repose sur 199 sujets qui ont développé un premier évènement coronaire et sur 1086 sujets de la sous cohorte qui ne présentent pas d'antécédent cardiovasculaire. Toutes les analyses sont réalisées avec des tests bilatéraux et des valeurs de $p < 0,05$ sont prises comme seuil de significativité statistique. Les analyses sont réalisées au moyen du logiciel SAS 9.1.3. (SAS Institute Inc.).

IV. Résultats

1. Caractéristiques générales

a. Caractéristiques générales des sujets de la cohorte des Trois Cités

Les femmes représentent la majorité des sujets (60,7 %) ; 60,3 % des personnes vivent en couple (proportion élevée par rapport à la population générale de même âge due au mode de recrutement). Comme c'est le cas dans toutes les cohortes de volontaires, les participants à l'étude 3C ont un niveau socio-économique supérieur à celui de l'ensemble de la population de même âge. Vingt-sept pour cent des hommes et 12% des femmes ont un niveau d'études supérieures. Un tiers des participants a un revenu mensuel supérieur à 2287E (15 000 francs). La majorité des femmes (86%) a exercé une activité professionnelle.

Les fréquences des différentes pathologies rapportées à l'entrée dans l'étude (5% d'accidents vasculaire cérébral, 1% de maladie de Parkinson, 21% de symptomatologie dépressive) correspondent à celles attendues dans ces classes d'âge (66). La consommation de médicaments à visée cardiovasculaire est très forte : 52% des participants prennent au moins un médicament hypotenseur, et 25% un hypolipémiant. La proportion de femmes prenant ou ayant pris un traitement hormonal substitutif de la ménopause est de 23% à Bordeaux, 31% à Dijon, 35% à Montpellier. Enfin, 7848 sujets n'ont pas d'antécédents de pathologies cardiovasculaires à l'inclusion.

b. Caractéristiques générales des sujets du cas-cohorte

Le tableau 4 présente les caractéristiques générales des sujets de la sous-cohorte (les cas de la sous cohorte ont été exclus) et des cas coronaires. Les effectifs et moyennes

des différentes variables sont identiques à ceux retrouvés dans la cohorte totale, vérifiant ainsi la qualité du tirage au sort effectué pour constituer la sous-cohorte.

Tableau 4 : Caractéristiques générales de la population du cas-cohorte « coronaire »

	non cas de la sous-cohorte n=1053	cas n=199
Age, années	73,7 (5,3)	75,0 (5,6)
Hommes	392 (37,2)	122 (61,3)
Niveau d'études : Baccalauréat et +	252 (27,8)	63 (34,6)
Vivant seul	370 (35,3)	58 (29,2)
Revenus mensuels, <1500 euros	346 (34,8)	59 (30,9)
Fumeurs actuels ou anciens	397 (37,7)	86 (43,2)
Non consommateur d'alcool	200 (19,7)	39 (20,5)
1 à 3 verres par semaine	677 (66,6)	117 (61,6)
Plus de 4 verres par semaine	139 (13,7)	34 (17,9)
Indice de Masse Corporelle, kg/m ²	25,7 (4,1)	26,1 (3,9)
Pression Artérielle Systolique, mmHg	146,6 (21,5)	151,8 (23,0)
Diabète ou intolérance au glucose	118 (11,2)	57 (28,9)
Statines	125 (11,5)	27 (13,6)
Fibrates	145 (13,4)	27 (13,6)
CRP-US, mg/L	2,0 [0,2-122,4]	2,9 [0,2-83,5]
Cholesterol total, mmol/L	5,9 (0,9)	6,0 (1,1)
LDL cholesterol, mmol/L	3,7 (0,8)	3,9 (0,9)
HDL cholesterol, mmol/l	1,6 (1,6)	1,5 (0,4)
Triglycerides, mmol/L	1,1 [0,3-8,0]	1,3 [0,4-5,4]
CHT/HDL	3,8 (1,0)	4,3 (1,2)
LDL/HDL	2,4 (0,8)	2,8 (0,9)
nonHDL (mmol/L)	4,26 (0,9)	4,5 (4,3)
ApoA, g/L	1,7 (0,3)	1,7 (0,3)
ApoB, g/L	0,9 (0,2)	1,0 (0,2)
ApoB/ApoA	0,6 (0,2)	0,7 (0,2)
Plaques carotidiennes*	327 (41,0)	95 (62,5)
Epaisseurs de l'intima media, mm*	0,7 (0,1)	0,7 (0,1)

Les données sont exprimées en n (%) pour les variables catégorielles et moyenne (écart-type) ou médiane (minimum-maximum) pour les variables continues respectivement.

*Les données sur l'écho-doppler des carotides ne concernent que 782 non cas et 147 cas qui sont âgés de moins de 85 ans à l'inclusion.

2. Résultat 1 : Risque de cardiopathies ischémiques associé à la concentration de CRP-US initiale

Publication associée : Straczek C, Ducimetière P, Barberger-Gateau P, Helmer C, Ritchie K, Jouven X, Carcaillon L, Amouyel P, Tzourio C, Empana JP. Higher level of systemic C-reactive protein is independently predictive of coronary heart disease in older community-dwelling adults: the three-city study. *J Am Geriatr Soc.* 2010;58:129-35.

Si de nombreuses études d'observation dont des méta-analyses montrent des associations significatives mais modérées entre concentration de CRP-US initiale et risque de cardiopathies ischémiques chez l'adulte jeune, cette question est peu abordée chez le sujet âgé. La présence de comorbidités multiples et la forte prévalence des traitements médicamenteux et notamment des traitements hypolipémiants peuvent moduler cette association. Le but de cette étude est donc de quantifier l'association entre la concentration de CRP-US à l'inclusion et la survenue d'événements coronaires incidents parmi les sujets âgés non institutionnalisés participant à l'étude des Trois Cités.

a. Méthodes

La CRP ultrasensible est dosée de manière centralisée et à l'aveugle du statut coronaire par turbidimétrie sur les plasmas décongelés qui ont été aliquotés à l'inclusion. La sensibilité et le coefficient de variation inter mesures de cette méthode étaient de 0,15mg/l et de 2,6% respectivement. Le fibrinogène est mesuré dans cette population par la méthode de Clauss (67).

* Analyses statistiques

Les trois sujets de la sous-cohorte n'ayant pas de mesure de la CRP-US sont exclus de cette analyse. L'analyse porte donc sur 199 cas coronaires et 1083 sujets de la sous-cohorte. Le niveau de CRP-US est catégorisé en faible (moins de 1mg/L), intermédiaire (de 1 à 3 mg/L), modérément élevé (de 3 à 10mg/L) et élevé (plus de 10mg/L) selon les recommandations de l'American Heart Association et du Center for Disease Control (37). Dans le cadre de la thèse et contrairement à la publication dans le JAGS, les sujets ayant une CRP-US>10mg/L sont classés séparément dans cette analyse pour étudier plus spécifiquement la relation entre une concentration de CRP-US reflétant un épisode inflammatoire aigu avec les cardiopathies ischémiques. L'ajout de cette catégorie ne change pas la conclusion de l'analyse mais modifie par endroit et à la marge la comparaison entre les groupes. Les caractéristiques de base des sujets de la sous-cohorte sont comparées selon les catégories de CRP-US définies précédemment, en utilisant la régression logistique pour les variables catégorielles et la régression linéaire pour les variables continues avec un ajustement sur l'âge, le sexe et le centre d'étude. Les risques relatifs (RR) et les intervalles de confiance à 95% (IC95) sont estimés par des modèles des risques proportionnels de Cox adaptés au schéma du cas-cohorte, en considérant la catégorie « faible » comme catégorie de référence (68). Les RR standardisés sont aussi estimés à partir de l'écart-type du logarithme népérien de la CRP-US calculé dans la sous-cohorte. Ils sont d'abord estimés avec un ajustement sur l'âge, le sexe et le centre d'étude puis avec un ajustement supplémentaire sur les facteurs de risques cardiovasculaires traditionnels, c'est-à-dire le statut tabagique, l'IMC, le statut glycémique, la pression artérielle systolique, les traitements antihypertenseurs, la concentration de HDL et de LDL, les TG (transformés en log) et la prise de statines. Les associations entre la concentration de CRP-US et les événements coronaires sont aussi examinées dans des groupes définis après stratification sur le sexe, le statut tabagique, l'IMC ($\pm 25 \text{ kg/m}^2$), le statut glycémique, la prise de statine, la prise d'aspirine, selon la valeur médiane des variables continues calculée chez les cas comme

l'âge (± 74 ans), le LDL ($\pm 3,60$ mmol/L), et l'IMT ($\pm 0,72$). Les produits d'interaction entre la CRP-US et chacun de ces facteurs de risque sont inclus dans les modèles.

b. Résultats

* Caractéristiques à l'inclusion

La médiane de concentration de CRP-US était de 2,03 mg/L avec un intervalle interquartiles de 1,06 à 4,16 mg/L ; 22,5% présentaient une concentration de CRP-US inférieure à 1,0 mg/L, 42,5% présentaient une concentration entre 1 et 3 mg/L, 27,7% présentaient une concentration entre 3 et 10 mg/L et 7,3% présentaient une concentration supérieure à 10 mg/L.

Les caractéristiques d'inclusion de la sous-cohorte par catégories de CRP-US sont présentées dans le tableau 5. Comme évoqué au paragraphe « analyses statistiques », les résultats de cette analyse descriptive diffèrent quelque peu par rapport au manuscrit publié dans le JAGS dans la mesure où la catégorie CRP-US > 10 mg/L est ajoutée ici. La concentration de CRP-US augmente avec l'âge, un faible niveau d'éducation, l'IMC, les TG, un traitement antihypertenseur, l'épaisseur de l'intima media au niveau de la carotide et la présence de plaques carotidiennes. Elle diminue avec l'augmentation de la concentration de HDL. Il existe une association modérée avec la pression artérielle systolique et le statut glycémique. La concentration de CRP-US n'est pas liée au sexe, aux revenus, au statut tabagique, à la concentration de LDL, au traitement hormonal de la ménopause (chez les femmes), ni au traitement par statine ou aspirine.

Tableau 5. Caractéristiques d'inclusion selon les concentrations de CRP ultrasensible dans la sous-cohorte (n=1083). Etude des Trois Cités.

	CRP ultrasensible (mg/L)				P †
	≤ 1 (n=244)	> 1 and ≤ 3 (n=460)	> 3 and ≤ 10 (n=300)	> 10 (n=79)	
Age, années	72,9 (5,2)	73,8 (5,2)	73,7 (5,3)	75,1 (5,7)	<0,01
Hommes	87 (35,7)	181 (39,4)	111 (37,0)	34 (43,0)	0,44
Baccalauréat et +	61 (30,4)	119 (29,3)	68 (26,0)	12 (17,7)	0,04
Vivant seul	154 (63,6)	300 (65,4)	198 (66,4)	50 (63,3)	0,50
Revenus mensuels, <1500 euros	75 (32,5)	145 (33,2)	113 (39,8)	22 (31,4)	0,22
Fumeurs actuels ou anciens	84 (34,4)	178 (38,7)	115 (38,3)	36 (45,6)	0,17
Indice de masse corporelle, kg/m ² :	23,3 (3,1)	25,9 (3,6)	26,8 (4,1)	27,5 (6,1)	<0,01
Diabète ou intolérance au glucose	20 (8,2)	53 (11,6)	45 (15,0)	8 (10,3)	0,09
Pression artérielle systolique, mmHg	143,2 (22,2)	147,2 (21,0)	148,5 (21,3)	146,3 (21,7)	0,09
HDL cholestérol, mmol/l	1,77 (0,43)	1,63 (0,38)	1,53 (0,38)	1,53 (0,37)	<0,01
LDL cholestérol, mmol/L	3,68 (0,76)	3,68 (0,86)	3,69 (0,84)	3,72 (0,91)	0,61
Triglycérides, mmol/L	1,07 (0,47)	1,21 (0,59)	1,36 (0,67)	1,31 (0,51)	<0,01
Traitement par statine	25 (10,3)	65 (14,1)	28 (9,3)	7 (8,9)	0,50
Traitement hormonal de la ménopause en cours	104 (68,4)	191 (71,3)	124 (68,5)	36 (81,8)	0,84
Utilisation d'aspirine	22 (9,0)	44 (9,6)	38 (12,7)	10 (12,7)	0,22
Traitement antihypertenseur	88 (36,1)	208 (45,2)	154 (51,3)	50 (63,3)	<0,01
Plaques carotidiennes*	69 (34,9)	141 (40,5)	93 (44,3)	37 (60,7)	<0,01
Epaisseur de l'intima média, mm*	0,693 (0,108)	0,721 (0,123)	0,705 (0,121)	0,757 (0,145)	0,06

Les données sont exprimées en n (%) et moyenne (écart-type) pour les variables catégorielles et continues respectivement.

* Echographie Doppler des carotides réalisée chez 951 sujets de moins de 85 ans à l'inclusion.

† Régression logistique et régression linéaire généralisée ajusté sur l'âge, le sexe et le centre d'étude, pour les variables catégorielles et continues respectivement.

* Données du suivi

Comme présenté dans le tableau 6, les associations entre la concentration de CRP-US et les évènements coronaires augmentent graduellement pour chaque catégorie de CRP-US (p de tendance $< 0,001$). Le risque relatif ajusté sur l'âge, le sexe et le centre d'étude est de 2,36 (IC95=1,43-3,90) pour une concentration de CRP-US entre 3 et 10 mg/L comparée à une concentration de CRP-US inférieure à 1mg/L. Le risque relatif standardisé (un écart-type du log de la CRP-US) est de 1,40 (IC 95%=1,18-1,67). Des ajustements supplémentaires sur les facteurs de risque cardiovasculaires changent très faiblement ces estimations qui restent significatives (RR calculé pour l'augmentation d'un écart-type du log de la CRP-US=1,27 ; IC95%=1,08-1,64).

Tableau 6: Risques relatifs et IC95% montrant l'association entre la concentration de la CRP-US à l'inclusion et les évènements coronaires incidents après 4 ans de suivi. L'étude des Trois Cités.

Concentration de la CRP ultrasensible, (mg/L)	Nombre de sujets dans la sous-cohorte	Nombre d'évènements coronaires	Modèle 1	Modèle 2
≤ 1	244	25	1.0	1.0
> 1 and ≤ 3	460	81	1,64 [1,00-2,68]	1,61 [0,94-2,74]
> 3 and ≤ 10	300	68	2,36 [1,43-3,90]	2,06 [1,14-3,69]
> 10	79	25	2,75 [1,47-5,17]	2,60 [1,27-5,31]
P de tendance			<0,0001	0,006
Pour l'augmentation d'un écart-type(1,01) du log de la CRP-US*			1,29 [1,12-1,48]	1,27 [1,06-1,51]

Le modèle 1 présente un ajustement sur l'âge, le sexe et le centre d'étude.

Le modèle 2 présente un ajustement supplémentaire sur le statut tabagique, l'IMC, le statut glycémique, l'HTA, les niveaux de HDL et LDL, les TG (tranformés en log) et le traitement par statines.

* l'écart-type du log est calculé dans la sous-cohorte.

Parmi les 951 sujets de moins de 85 ans à l'inclusion pour lesquels une échographie doppler des carotides est réalisée, une concentration de CRP-US comprise entre 3 et 10mg/L reste associée aux évènements coronaires après ajustement supplémentaire sur l'épaisseur de l'intima media (RR pour la CRP-US=2,32 ; 1,21-4,43) ou sur la présence de plaques carotidiennes (RR pour la CRP-US=2,15 ; 1,13-4,11) comparée à une concentration de CRP-US<1mg/L.

Le tableau 7 présente les mêmes résultats d'association des différentes classes de CRP-US que le tableau précédent mais avec le temps considéré comme échelle de temps et non plus l'âge.

Tableau 7: Risque relatifs et IC 95% montrant l'association entre la concentration de la CRP-US à l'inclusion et les événements coronaires incidents après 4 ans de suivi en utilisant le temps comme échelle de temps. L'étude des Trois Cités.

Concentration de la CRP-US, (mg/L)	Nombre de sujets dans la sous-cohorte	Nombre d'événements coronaires	Modèle 1	Modèle 2
≤ 1	244	25	1,0	1,0
> 1 and ≤ 3	460	81	1,61 [1,00-2,60]	1,58 [0,93-2,70]
> 3 and ≤ 10	300	68	2,28 [1,39-3,72]	2,00 [1,11-3,58]
> 10	79	25	2,75 [1,49-5,01]	2,59 [1,26-5,25]

Le modèle 1 présente un ajustement sur l'âge, le sexe et le centre d'étude.

Le modèle 2 présente un ajustement supplémentaire sur le statut tabagique, l'IMC, le statut glycémique, l'HTA, les niveaux de HDL et LDL cholestérol, les TG (transformés en log) et le traitement par statines.

Prendre le temps comme échelle de temps ne modifie pas les valeurs des RR estimés.

Le tableau 8 illustre les associations entre une augmentation d'un écart-type du log de la CRP-US avec les événements coronaires dans des catégories de divers facteurs de risque, avec un ajustement multiple. Il n'y a pas d'interactions entre les différents facteurs de risque, la CRP-US et le risque d'événements coronaires. L'association tend à être plus forte chez les femmes que chez les hommes. L'apparente association plus forte entre la CRP-US et les événements coronaires parmi les sujets qui utilisent une statine à l'inclusion devrait être interprétée avec précaution si l'on considère le relatif faible nombre d'événements coronaires dans ce sous-groupe et le nombre d'analyses en sous-groupes.

Tableau 8 : Risques relatifs et IC95% montrant l'association entre la concentration de la CRP-US à l'inclusion et les événements coronaires incidents après 4 ans de suivi dans les catégories de facteurs de risque cardiovasculaires. Etude des Trois Cités.

Catégories de facteurs de risque	Nombre de sujets dans la sous-cohorte	Nombre d'événements coronaires	RR* [IC95]	p†
Age ≤74 ans	583	84	1,39 [1,06-1,81]	0,75
Age >74 ans	500	105	1,21 [0,94-1,55]	
Homme	413	116	1,16 [0,92-1,46]	0,20
Femmes	670	73	1,37 [1,03-1,85]	
Non fumeurs	670	108	1,46 [1,14-1,87]	0,18
Fumeurs anciens et actuels	413	85	1,10 [0,85-1,42]	
IMC<25 kg/m ²	511	74	1,33 [0,99-1,79]	0,44
IMC≥25 kg/m ²	565	115	1,20 [0,96-1,51]	
Non diabétique	955	133	1,21 [1,01-1,46]	0,22
Diabète ou intolérance au glucose	126	56	1,59 [0,90-2,82]	
LDL<3,60mmol/L	515	86	1,32 [1,00-1,74]	0,96
LDL≥3,60mmo/L	564	103	1,34 [1,07-1,70]	
HDL<1,47mmol/L	403	94	1,24 [0,92-1,67]	0,60
HDL≥1,47mmol/L	680	95	1,35 [1,07-1,70]	
TG<1,25mmol/L	684	91	1,32 [1,06-1,64]	0,88
TG≥1,25mmol/L	399	98	1,2 [0,89-1,63]	
Non traité par statine	958	163	1,21 [1,00-1,47]	0,20
Traité par statine	125	26	1,93 [1,06-3,52]	
Non traité par aspirine	969	168	1,25 [1,04-1,51]	0,90
Traité par aspirine	114	21	1,85 [0,69-5,00]	
Pas de traitement antihypertenseur	583	84	1,35 [1,02-1,80]	0,28
Traitement antihypertenseur	500	105	1,18 [0,92-1,52]	
Pas de plaque carotidienne	477	55	1,48 [1,04-2,09]	0,41
Plaque carotidienne	340	93	1,08 [0,85-1,38]	
<50% IMT	457	73	1,38 [1,02-1,86]	0,22
≥50% IMT	345	70	1,15 [0,87-1,54]	

* Les risques relatifs ont été estimés pour 1 écart-type du log de la CRP ultrasensible calculé dans la sous-cohorte (écart-type=1,01) par le modèle des risques proportionnels de Cox avec un ajustement sur l'âge, le sexe, le centre d'étude, le statut tabagique, l'IMC, le statut glycémique, l'hypertension, les concentrations de HDL et LDL cholestérol, les triglycérides (transformés en log) et l'utilisation de statines.

† p d' interaction

* Analyses complémentaires

Après analyses multivariées, la CRP-US est associée à une augmentation du risque des événements coronaires fatals ($n=38$, RR pour l'augmentation d'un écart-type du log de la CRP-US=1,41, CI95=0,91-2,18) et non fatals ($n=161$, RR=1,21, CI95=1,01-1,46) avec un niveau d'association similaire à celui décrit pour l'ensemble des événements coronariens. Parmi les femmes qui n'utilisent pas de traitement hormonal de la ménopause à l'inclusion (70,5% des femmes de la sous-cohorte n'ont jamais utilisées de traitement hormonal de la ménopause), la CRP-US reste associée aux événements coronaires ($n=26$ événements coronaires, RR pour l'augmentation d'un écart-type du log de la CRP-US =1,70; 95%CI=0,96-3,00). De telles analyses ne peuvent être réalisées dans le groupe des utilisatrices de traitement hormonal de la ménopause dans la mesure où seulement 6 événements coronaires sont apparus dans ce groupe pendant les 4 ans de suivi.

De plus, la CRP-US n'est pas corrélée à la fonction rénale à l'inclusion évaluée par la formule « Modification of the Diet in Renal Disease » ou MDRD (coefficient de corrélation dans la sous-cohorte : -0,03, $p=0,27$) et des ajustements supplémentaires sur la fonction rénale ne modifient pas l'association entre CRP-US et événement coronaires.

Les relations entre CRP-US, fibrinogène et risque coronaire sont évaluées car le fibrinogène est aussi un marqueur de l'inflammation (et un marqueur d'hémostase). Le fibrinogène seul est associé de manière significative aux événements coronaires après ajustement sur l'âge, le sexe et le centre d'étude (RR pour l'augmentation d'1g/L=1,36, CI95=1,09-1,69). Le fibrinogène est corrélé à la CRP-US dans la sous-cohorte (coefficient de corrélation=0,50). La CRP-US reste associée aux événements coronaires après un ajustement supplémentaire sur le fibrinogène (RR pour l'augmentation d'un écart-type du log de la CRP-US =1,21; 95%CI=1,00-1,48) mais pas le fibrinogène (RR pour l'augmentation d'1 g/l = 1,11, CI95=0,83-1,49).

Nous évaluons également la place de la CRP-US dans le domaine de la prédiction individuelle du risque coronaire. Dans notre étude, l'ajout de la CRP-US à un modèle de

prédiction de base comprenant l'âge, le sexe, le tabac, l'IMC, le diabète, le LDL, le HDL, les TG, la prise de statines, la pression artérielle systolique, la prise de traitement hypotenseur comme facteurs de risque n'améliore pas statistiquement les capacités discriminatoires de ce modèle comme le montre le changement de c statistique de 0,740 à 0,746.

En conclusion, ce travail suggère qu'une concentration systémique plus élevée de CRP-US est un indicateur de risque indépendant de maladies coronaires après quatre ans de suivi dans une population de personnes âgées non institutionnalisées. La possible valeur ajoutée de la CRP-US dans la prédiction du risque de maladies coronaires chez la personne âgée non institutionnalisée devrait être étudiée avec des biomarqueurs impliqués dans d'autres voies physiopathologiques (approche « multimarqueurs »).

3. Résultat 2 : Risque de cardiopathies ischémiques associé aux lipides et apolipoprotéines circulants selon la prise d'un traitement hypolipémiant

Publication associée : C. Straczek, M. Tafflet, P. Barberger-Gateau, M Bertrand, A.M.Dupuy, P. Ducimetière, JP. Empana, Do lipids and apolipoproteins predict coronary heart disease under statin therapy in the primary prevention setting in community-dwelling elderly? The 3C Study. *Atherosclerosis* 2011 ; 214 :426-31

L'objectif est de clarifier l'association entre lipides, apolipoprotéines et le risque d'évènements coronaires en prévention primaire chez la personne âgée non institutionnalisée en séparant les individus traités ou non par un hypolipémiant à l'inclusion.

a. Méthodes

L'apoA, l'apoB et la CRP ultrasensible sont dosées de manière centralisée et à l'aveugle du statut coronaire par turbidimétrie sur les plasmas décongelés qui ont été aliquotés à l'inclusion. La sensibilité et le coefficient de variation intermesure de ces méthodes sont respectivement de 1,07 μ mol/L et de 3,6% pour l'apoA, 0,11 μ mol/L et 2,9% pour l'apoB et de 0,15mg/l et de 2,6% pour la CRP ultrasensible.

Les paramètres biologiques standards incluant le CHT, le HDL, les TG et la glycémie, sont mesurés pour la cohorte entière. Les analyses sont centralisées dans un seul laboratoire qui utilise des méthodes standards. Le LDL-cholestérol est estimé par la formule de Friedwald pour les sujets dont les TG sont inférieurs à 4,5g/L (5,08 mmol/L). Le nonHDL cholestérol est calculé par la différence entre le cholestérol total et le HDL. Le diabète comprenant l'intolérance au glucose est défini par une glycémie supérieure à 6.1mmol/L (110mg/dL) ou par la prise de spécialités antidiabétiques.

Dans ce travail, j'utilise aussi les données codées selon l'ATC concernant les traitements médicamenteux que les sujets déclarent utiliser en apportant leurs ordonnances au centre d'examen.

* Analyses statistiques

La population d'étude de ce travail comprend 199 sujets qui ont développé un évènement coronaire durant les 4 ans de suivi et 1086 sujets de la sous-cohorte. Cependant, quatre participants de la sous-cohorte ainsi qu'un cas n'ayant pas de valeur pour le LDL, les analyses concernant le LDL portent donc sur 198 cas et 1082 sujets de la sous-cohorte. De plus, un participant de la sous-cohorte n'a pas de valeur d'apolipoprotéines, si bien que les analyses concernant les apolipoprotéines portent sur 199 cas et 1085 sujets de la sous-cohorte. Les caractéristiques générales à l'inclusion sont étudiées dans la sous-cohorte et sont comparées entre les participants qui ne reçoivent pas d'hypolipémiant, ceux qui utilisent une statine et ceux qui utilisent un fibraté. Ces données sont comparées entre les trois groupes par une régression logistique ou une régression linéaire générale en ajustant sur l'âge, le sexe et le centre d'étude pour les variables catégorielles et continues, respectivement. Dans chaque groupe de traitement, le modèle de Cox adapté au schéma du cas-cohorte est utilisé pour estimer les RR et IC95 de chaque paramètre lipidique avec les cardiopathies ischémiques. Ces analyses sont tout d'abord ajustées sur l'âge, le sexe, le centre et le niveau d'éducation dans un modèle 1, puis sur la consommation d'alcool, l'IMC, le diabète, la pression artérielle systolique, le traitement antihypertenseur et la CRP-US dans un modèle 2.

b. Résultats

Les caractéristiques générales de la population du cas-cohorte sont décrites au paragraphe des caractéristiques générales (IV/1/b). Les caractéristiques à l'inclusion des sujets de la sous-cohorte par catégorie d'hypolipémiant sont indiquées dans le tableau 9. Dans la sous-cohorte, 816 sujets (75,1%) ne reçoivent pas d'hypolipémiant, 145 (13,4%) utilisent des fibrates dont 70% utilisent du fénofibrate, et 125 (11,5%) utilisent une statine (43 utilisent de la simvastatine, 30 de la pravastatine, 25 de l'atorvastatine et 20 de la cérivastatine). Concernant les facteurs de risque cardiovasculaires non lipidiques et comparés aux sujets non traités, les sujets sous statine montrent une tendance à être plus diabétiques, ($p=0,07$) et à présenter un IMC plus haut ($p=0,08$) alors que ceux sous fibrate ont tendance à être plus souvent des femmes ($p=0,07$), à avoir une CRP-US plus élevée ($p=0,09$), et sont plus diabétiques ($p=0,02$). De plus, les sujets sous statine ou fibrate présentent des concentrations plus faibles en lipides comparés aux sujets non traités ($p<0,001$) exceptés pour les TG qui sont plus élevés pour les sujets sous statines ($p=0,002$) ; les concentrations en apoA et HDL ne présentent pas de différence significative entre les groupes.

Tableau 9 : Caractéristiques à l'inclusion des sujets traités ou non par hypolipémiant dans la sous-cohorte. Etude des Trois Cités.

	Pas d'hypolipémiant n=816	Statines n=125	Fibrates n=145	p†	p‡
Age	73,8 (5,5)	73,0 (4,7)	73,7 (4,7)	0,10	0,62
Hommes	327 (40,1)	41 (32,8)	46 (31,7)	0,14	0,07
Baccalauréat et +	211 (30,2)	28 (25,2)	21 (16,2)	0,40	0,004
Habitant seul	288 (35,4)	41 (33,1)	49 (34,0)	0,35	0,22
Revenus mensuels < 1500 Euros	268 (34,8)	37 (31,4)	51 (37,5)	0,24	0,83
Activité physique régulière ou fréquente	190 (31,8)	39 (44,3)	25 (24,5)	0,04	0,18
Fumeurs actuels ou anciens	314 (38,5)	49 (39,2)	51 (35,2)	0,26	0,77
- Non consommateur d'alcool	160 (20,4)	19 (15,6)	27 (19,3)	0,05	0,47
- 1-3 verres d'alcool par semaine	515 (66,6)	85 (69,7)	97 (69,3)		
- >3 verres d'alcool par semaine	110 (14,0)	18 (14,8)	16 (11,4)		
Diabète ou intolérance au glucose	84 (10,3)	19 (15,2)	24 (16,6)	0,07	0,02
Pression artérielle systolique, mmHg	146,5 (21,2)	148,5 (23,3)	145,3 (21,2)	0,17	0,65
IMC (kg/m²)*	25,1 (22,9-27,5)	26,2 (23,9-28,4)	25,3 (23,5-28,4)	0,08	0,52
CRP ultrasensible (mg/L)*	2,0 (1,0-4,2)	1,8 (1,2-3,6)	2,5 (1,2-4,5)	0,8	0,09
ApoB (g/L)	0,99 (0,21)	0,96 (0,20)	0,94 (0,18)	0,16	0,004
LDL cholestérol (mmol/L)	3,76 (0,85)	3,39 (0,86)	3,54 (0,68)	<0,0001	0,001
Triglycérides* (mmol/L)	1,10 (0,86-1,46)	1,28 (0,98-1,66)	0,93 (0,70-1,22)	0,002	<0,0001
NonHDL (mmol/L)	4,23 (0,95)	4,01 (0,94)	4,01 (0,81)	0,002	<0,0001
ApoA (g/L)	1,67 (0,30)	1,70 (0,30)	1,73 (0,31)	0,70	0,10
HDL cholestérol (mmol/L)	1,63 (0,40)	1,60 (0,41)	1,63 (0,40)	0,21	0,55
ApoB/ApoA	0,61 (0,17)	0,59 (0,17)	0,56 (0,16)	0,24	0,005
LDL/HDL	2,44 (0,81)	2,25 (0,81)	2,32 (0,80)	0,02	0,15

Les données sont exprimées en n (%) et moyenne (écart-type) pour les variables catégorielles et continues respectivement.

* Variables continues exprimées en médiane (intervalle interquartile).

Régression logistique et modèle linéaire généralisé ajusté sur l'âge, le sexe et le centre d'étude, pour les variables catégorielles et continues, respectivement, comparaison entre †sujets sous statines et pas d'hypolipémiant et entre ‡sujets sous fibrates et pas d'hypolipémiant

Parmi les participants qui n'utilisent pas d'hypolipémiant à l'inclusion, 145 présentent un premier évènement coronaire pendant la période de suivi. Dans ce groupe, comme montré dans le tableau 10, le LDL, les TG, le nonHDL, l'apoB ainsi que les ratios apoB/apoA et LDL/HDL sont tous prédicteurs des cardiopathies ischémiques après ajustement sur l'âge, le sexe, le centre d'étude et le niveau d'éducation ; l'apoA et le HDL présentent une association inverse avec les cardiopathies ischémiques faiblement significative. Après ajustements supplémentaires sur la consommation d'alcool, l'IMC, le diabète, l'hypertension et la CRP ultrasensible (voir figure 10), le LDL, le nonHDL, l'apoB, les ratios apoB/apoA et LDL/HDL restent prédictifs des cardiopathies ischémiques. En outre, les associations sont de force comparable. L'association avec les TG diminue après ajustement multiple mais reste statistiquement significative. Les associations avec l'apoA et le HDL ne sont plus observées.

Concernant les sujets traités par statines à l'inclusion, 27 développent un évènement coronaire pendant le suivi. Comme indiqué dans le tableau 10, dans ce groupe, la majorité des paramètres lipidiques, excepté l'apoA et le HDL, sont des prédicteurs significatifs des cardiopathies ischémiques après ajustement sur l'âge, le sexe, le centre d'étude et le niveau d'éducation. Les risques relatifs estimés augmentent après ajustement sur les facteurs de risques traditionnels non lipidiques (voir figure 10), excepté pour les TG et l'apoA. De plus, pour un marqueur lipidique donné, l'association avec les évènements coronaires est plus forte chez ceux traités par statine par rapport à ceux non traités par un hypolipémiant. Ces différences sont statistiquement significatives pour les TG ($p=0,03$), le ratio LDL/HDL ($p=0,05$) et à la limite de la significativité pour le ratio apoB/apoA ($p=0,07$) dans des modèles avec ajustement complet.

Concernant les sujets traités par fibrates à l'inclusion, 27 développent une cardiopathie ischémique pendant la période de suivi. Dans ce groupe, les TG et le HDL sont significativement prédictifs des cardiopathies ischémiques après ajustement sur l'âge, le

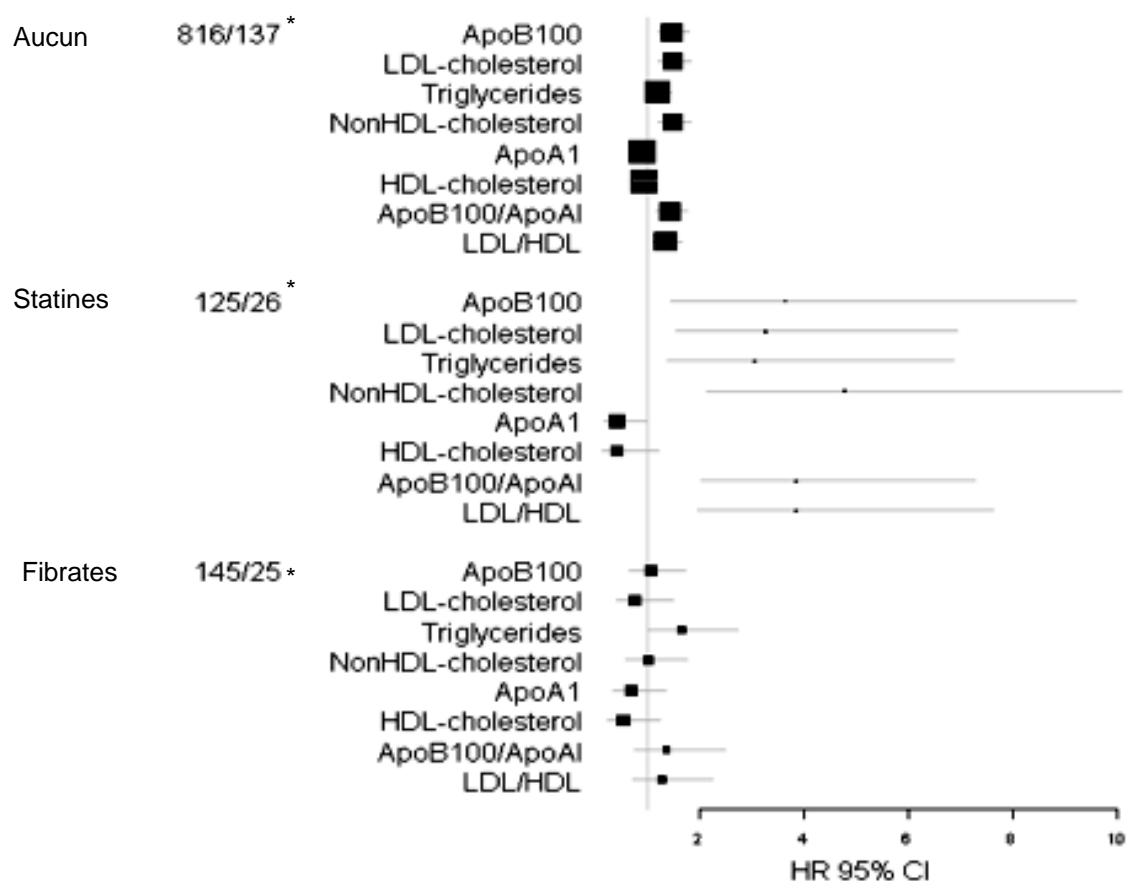
sexe, le centre d'étude et le niveau d'éducation (voir tableau 10) ; dans les analyses avec ajustement complet, seuls les TG restent associés aux évènements coronaires (voir figure 10).

Tableau 10 : Risques relatifs des lipides standards, des apolipoprotéines et de leurs ratios respectifs avec un premier évènement coronaire durant 4 ans de suivi, stratifiés selon la prise d'un traitement d'hypolipémiant. Etude des Trois Cités.

	Pas d'hypolipémiant	Statines	Fibrates
Sujets de la sous-cohorte	816	125	145
Evènements coronaires	145	27	27
	RR et IC 95%	RR et IC 95%	RR et IC 95%
ApoB	1,42 [1,19-1,71]	2,65 [1,41-4,96]	1,03 [0,70-1,53]
LDL cholesterol	1,38 [1,13-1,69]	2,20 [1,27-3,81]	0,75 [0,45-1,24]
Triglycerides	1,26 [1,05-1,50]	3,36 [1,67-6,76]	1,68 [1,04-2,72]
NonHDL	1,43 [1,18-1,74]	3,22 [1,72-6,04]	0,98 [0,63-1,53]
ApoA	0,80 [0,65-1,00]	0,53 [0,27-1,07]	0,72 [0,44-1,17]
HDL cholesterol	0,83 [0,67-1,02]	0,47 [0,18-1,20]	0,53 [0,29-0,97]
ApoB/ApoA	1,48 [1,23-1,78]	2,83 [1,58-5,06]	1,23 [0,81-1,87]
LDL/HDL	1,38 [1,14-1,67]	2,66 [1,59-4,45]	1,22 [0,80-1,86]

Risques relatifs calculés par modèle de Cox pour l'augmentation d'un écart-type de chaque paramètre lipidique, ajustés sur l'âge, le sexe, le centre d'étude et le niveau d'éducation.

Figure 10 : Risques relatifs ajustés des paramètres lipidiques pour les évènements coronaires après 4 ans de suivi, selon le groupe de traitement. Etude des Trois Cités.



*Sujets de la sous-cohorte/cas coronaires

Dans chaque groupe, les risques relatifs sont estimés par des modèles de Cox séparés et sont ajustés sur l'âge, le sexe, le niveau d'éducation, la consommation d'alcool, l'IMC, le diabète ou l'intolérance au glucose, la pression artérielle systolique, traitement antihypertenseur et la CRP-US.

Les associations entre les lipides classiques, les apolipoprotéines et leurs ratios respectifs avec les événements coronaires létaux ou non sont présentées au tableau 11.

Tableau 11: Association des lipides classiques, des apolipoprotéines et leurs ratios respectifs avec un premier événement coronaire fatal ou non en quatre ans de suivi. Etude des Trois Cités.

Type d'événements	modèle 1		modèle 2	
	Fatal N=38	Non fatal N=161	Fatal N=38	Non fatal N=161
	RR et IC à 95%	RR et IC à 95%	RR et IC à 95%	RR et IC à 95%
ApoB	1,24 [0,90-1,73]	1,48 [1,26-1,75]	1,21 [0,87-1,69]	1,53 [1,29-1,83]
LDL cholestérol	0,97 [0,68-1,37]	1,45 [1,21-1,73]	0,97 [0,68-1,39]	1,57 [1,30-1,90]
triglycerides	1,65 [1,16-2,35]	1,32 [1,12-1,56]	1,54 [1,07-2,23]	1,27 [1,06-1,51]
nonHDL	1,17 [0,83-1,66]	1,51 [1,28-1,77]	1,15 [0,81-1,63]	1,60 [1,34-1,91]
ApoA	0,68 [0,44-1,05]	0,81 [0,66-0,99]	0,77 [0,51-1,18]	0,85 [0,69-1,05]
HDL cholestérol	0,70 [0,45-1,09]	0,77 [0,62-0,95]	0,82 [0,52-1,28]	0,84 [0,67-1,05]
ApoB/ApoA	1,35 [1,02-1,80]	1,50 [1,28-1,77]	1,26 [0,94-1,69]	1,54 [1,28-1,84]
LDL/HDL	1,17 [0,87-1,58]	1,47 [1,26-1,72]	1,08 [0,80-1,46]	1,51 [1,26-1,81]

Les risques relatifs sont estimés par le modèle des risques proportionnels de Cox et sont donnés pour l'augmentation d'un écart-type calculé dans la sous-cohorte. Le modèle 1 est ajusté sur le centre, l'âge et le sexe. Le modèle 2 est ajusté en plus sur l'indice de masse corporelle, le diabète, la pression artérielle systolique et le traitement antihypertenseur, les traitements hypolipémiants et la CRP ultrasensible.

Dans des analyses ajustées sur l'âge, le sexe et les centres d'études, tous les lipides étudiés sont prédictifs de la morbidité coronaire (n=161 événements), associations à la limite de la significativité pour l'apoA et le HDL. L'ajustement sur les facteurs de risque classiques non lipidiques modifie peu les associations entre les marqueurs lipidiques et les événements coronaires non fatals. Seuls les TG et le ratio apoB/apoA sont significativement associés à la mortalité coronaire y compris en analyse multivariée (n=38 événements fatals).

Après évaluation des associations entre les marqueurs lipidiques et les événements coronaires parmi les sujets avec un LDL inférieur à 3,29 mmol/L (soit 1,3 g/L) définissant des sujets normolipémiques en population générale, tous les lipides proathérogéniques sont

associés à une augmentation du risque coronaire. Alors que l'apoA n'est pas associée au risque coronaire, le HDL est toujours associé à une diminution du risque coronaire.

De plus, dans le groupe des sujets non traités par hypolipémiant et dans un modèle avec ajustement complet, la CRP-US (cut-off à 3 mg/L) et l'hypertension sont aussi significativement prédictifs des cardiopathies ischémiques avec des RR à 1,3 et 1,7, respectivement. Parmi les sujets traités par statines, les RR pour la CRP-US sont significatifs et ont la même force quelque soit le paramètre lipidique considéré. L'association avec l'hypertension n'atteint pas la significativité statistique. Chez ceux traités par fibrates, ni la CRP-US ni l'hypertension ne sont associés aux événements coronaires.

En conclusion, la présente étude suggère une hétérogénéité dans les associations des lipides et apolipoprotéines avec les événements coronaires selon le traitement hypolipémiant. En l'absence de traitement hypolipémiant, les lipides classiques, le nonHDL cholestérol et l'apolipoprotéine B100 sont des prédicteurs indépendants des cardiopathies ischémiques. Parmi ceux traités par statines, ces associations sont maintenues et apparaissent plus fortes. Parmi ceux traités par fibrates, seuls les triglycérides sont les prédicteurs indépendants des cardiopathies ischémiques.

4. Résultat 3 : Place des apolipoprotéines et du nonHDL cholestérol dans l'évaluation du risque coronaire de la personne âgée non institutionnalisée.
Etude des Trois Cités.

Publication associée : C. Straczek, P. Ducimetière, H. Marti-Soler, C Helmer, K Ritchie, C. Tzourio, JP. Empana. Clinical utility of standard lipids and apolipoproteins in relation to coronary heart disease events in the elderly. The Three City Study. (*en cours*)

Le but de ce travail est d'étudier la place des marqueurs lipidiques non classiques, c'est-à-dire apolipoprotéines AI et B100 et non-HDL cholestérol, par rapport aux marqueurs lipidiques classiques (LDL et HDL cholestérol) et aux autres facteurs de risque usuels dans la prédiction des cardiopathies ischémiques chez la personne âgée non institutionnalisée.

a. Méthodes

Les corrélations entre les différents paramètres lipidiques sont analysées parmi les sujets de la sous-cohorte par le test de corrélation des rangs de Spearman ajusté sur l'âge, le sexe et les centres d'étude.

* Estimation des risques relatifs

En premier lieu, les associations entre paramètres lipidiques et événements coronaires sont analysées en utilisant les données du cas-cohorte. Le modèle de Cox adapté au schéma du cas-cohorte est utilisé pour estimer les RR et IC95 de chaque paramètre lipidique avec les événements coronaires. Ces analyses sont tout d'abord ajustées sur l'âge, le sexe et le centre d'étude dans un modèle 1, puis sur l'IMC, le diabète,

la pression artérielle systolique, le traitement antihypertenseur, le traitement hypolipémiant et la CRP-US dans un modèle 2.

Afin d'identifier lequel des marqueurs lipidiques est le meilleur prédicteur de cardiopathies ischémiques, une série de comparaison par paires est effectuée en utilisant des modèles de Cox à risques proportionnels ajustés sur l'âge, le sexe et les centres d'études. Ainsi le nonHDL est testé dans des modèles comprenant soit le LDL, soit les TG soit l'apoB. Selon les mêmes principes, l'apoB est combiné avec le LDL ou les TG. L'apoA est comparé de la même manière avec le HDL et le ratio apoB/apoA avec le ratio LDL/HDL ou le nonHDL.

* Prédiction individuelle

En deuxième lieu, l'utilité prédictive des différents paramètres lipidiques pour l'estimation du risque de cardiopathies ischémiques est évaluée. Pour cela, il est nécessaire de se mettre en condition de cohorte totale. C'est pourquoi, une imputation multiple (décrite au chapitre III/3 Méthodes/Place des biomarqueurs dans la prédiction individuelle du risque cardiovasculaire/ Imputations des données manquantes) est réalisée pour compléter les paramètres manquants (apoA et apoB) pour les non-cas n'appartenant pas à la sous-cohorte grâce à une collaboration avec l'équipe de Michel Chavance.

Les méthodes suivantes de discrimination décrites dans les méthodes (III/3) sont appliquées :

- ✓ Le calcul de l'index c de Harrell
- ✓ Le calcul du NRI. Pour cette méthode, des classes de risque sont définies à partir des catégories de risque de Framingham (10 et 20%) interpolées pour une prédiction à 4 ans selon la formule suivante :

$$\text{seuil_nv}=1-(1-\text{seuil_anc})^{(4/10)}.$$

Ainsi nous obtenons les catégories suivantes : <4,1%, 4,1 à 8,5% et >8,5%

La discrimination des modèles M1 à M4 est comparée à celle du modèle de base M0. Le modèle M0 comprend des facteurs de risque cardiovasculaires traditionnels non lipidiques à l'exception du traitement hypolipémiant : âge, sexe, centre, IMC, pression artérielle systolique, traitement antihypertenseur, hypolipémiant, statut glycémique.

Le modèle M1 : M0 + LDL + HDL

Le modèle M2 : M0 + apoB + apoA

Le modèle M3 : M0 + non HDL

Le modèle M4 : M0 + apoB/apoA

b. Résultats

Les niveaux moyens et les déviations standards des principaux lipides dans la sous-cohorte sont les suivants :

- LDL : 3,7 mmol/l (DS=0,8)
- HDL: 1,6 mmol/L (DS=0,4)
- ApoB : 0,9 g/L (DS=0,2)
- ApoA : 1,7 g/L (DS=0,3)
- NonHDL : 4,3 mmol/L, le cholestérol total étant à 5,9 mmol/L

Les corrélations entre les différents marqueurs lipidiques sont calculées parmi les sujets de la sous-cohorte ne recevant pas de traitement hypolipémiant et sont présentées dans le tableau 12.

Tableau 12 : Coefficients de corrélation partielle de Spearman ajustés sur l'âge, le sexe et le centre entre les marqueurs lipidiques dans la sous-cohorte (n=956). Etude des Trois Cités.

	LDL cholesterol (mmol/L)	Triglycerides (mmol/L)	nonHDL (mmol/L)	Apo A (g/L)	HDL cholesterol (mmol/L)	ApoB/ApoA	LDL/HDL
Apo B (g/L)	0,85958*	0,45611*	0,89363*	-0,06630†	-0,20700*	0,76698*	0,71940*
LDL cholesterol (mmol/L)		0,27205*	0,96737*	0,01611	-0,05214	0,61094*	0,69195*
Triglycerides (mmol/L)			0,47473*	-0,20461*	-0,44351*	0,47167*	0,49588*
nonHDL (mmol/L)				-0,03901	-0,15968*	0,67177*	0,75265*
Apo A (g/L)					0,84758*	-0,65097*	-0,56656*
HDL cholesterol (mmol/L)						-0,67275*	-0,72221*
ApoB/ApoA							0,90237*

*p<0,0001,

†p<0,05

Après ajustement sur l'âge, le sexe et les centres d'étude, les coefficients de corrélation entre l'apoB, le LDL et le nonHDL sont compris entre 0,87 et 0,97. Celui entre l'apoA et le HDL est de 0,86. L'apoA et le HDL sont inversement corrélés aux TG. Le HDL est inversement corrélé à l'apoB et au nonHDL.

Les associations entre les lipides classiques, des apolipoprotéines et de leurs ratios respectifs avec les évènements coronaires sont indiquées dans le tableau 13.

Tableau 13: Association des lipides classiques, des apolipoprotéines et leurs ratios respectifs avec un premier évènement coronaire en quatre ans de suivi. Etude des Trois Cités.

	modèle 1 RR et IC à 95%	modèle 2 RR et IC à 95%
ApoB	1,45 [1,24-1,69]	1,50 [1,27-1,76]
LDL cholestérol	1,35 [1,15-1,60]	1,49 [1,25-1,77]
triglycerides	1,39 [1,19-1,62]	1,35 [1,13-1,60]
non HDL	1,46 [1,24-1,73]	1,57 [1,33-1,86]
ApoA	0,78 [0,64-0,94]	0,83 [0,68-1,01]
HDL cholestérol	0,75 [0,62-0,92]	0,83 [0,68-1,03]
ApoB/ApoA	1,49 [1,28-1,73]	1,52 [1,29-1,80]
LDL/HDL	1,42 [1,23-1,64]	1,47 [1,24-1,74]

Les risques relatifs sont estimés par le modèle des risques proportionnels de Cox et sont donnés pour l'augmentation d'un écart-type calculé dans la sous-cohorte. Le modèle 1 est ajusté sur le centre, l'âge et le sexe. Le modèle 2 est ajusté en plus sur l'indice de masse corporelle, le diabète, la pression artérielle systolique et le traitement antihypertenseur, les traitements hypolipémiants et la CRP-US.

Tous les paramètres lipidiques sont associés significativement à un futur évènement coronaire après ajustement sur l'âge, le sexe et les centres d'études. La valeur des risques relatifs est comparable. Après ajustement sur l'IMC, le diabète, la pression artérielle systolique, le traitement antihypertenseur, les traitements hypolipémiants et la CRP-US, tous

les marqueurs lipidiques proathérogéniques restent des prédicteurs des cardiopathies ischémiques. En revanche, les associations de l'apoA et du HDL avec les cardiopathies ischémiques ne sont plus significatives.

Les mêmes résultats sont observés lorsque le temps de suivi est pris en échelle de temps (tableau 14).

Tableau 14: Association des lipides classiques, des apolipoprotéines et leurs ratios respectifs avec un premier évènement coronaire en quatre ans de suivi en utilisant le temps comme échelle de temps. Etude des Trois Cités.

	modèle 1 RR et IC à 95%	modèle 2 RR et IC à 95%
ApoB	1,43 [1,23-1,66]	1,49 [1,27-1,74]
LDL cholestérol	1,35 [1,14-1,60]	1,51 [1,26-1,80]
triglycerides	1,41 [1,20-1,65]	1,34 [1,13-1,59]
nonHDL	1,46 [1,25-1,71]	1,59 [1,34-1,88]
ApoA	0,78 [0,65-0,94]	0,85 [0,70-1,03]
HDL cholestérol	0,75 [0,62-0,91]	0,84 [0,69-1,03]
ApoB/ApoA	1,50 [1,29-1,74]	1,51 [1,27-1,78]
LDL/HDL	1,43 [1,23-1,67]	1,46 [1,24-1,72]

Les risques relatifs sont estimés par le modèle des risques proportionnels de Cox et sont donnés pour l'augmentation d'un écart-type calculé dans la sous-cohorte. Le modèle 1 est ajusté sur le centre, l'âge et le sexe. Le modèle 2 est ajusté en plus sur l'IMC, le diabète, la pression artérielle systolique et le traitement antihypertenseur, les traitements hypolipémiants et la CRP-US.

Afin d'identifier les marqueurs lipidiques les plus prédictifs de cardiopathies ischémiques, une série de comparaison par paires est effectuée en utilisant des modèles de Cox ajustés sur l'âge, le sexe et les centres d'études (tableau 15).

Tableau 15: Analyse par paires lipidiques ajustée sur l'âge, le sexe et le centre d'étude.

Premier marqueur lipidique			Deuxième marqueur lipidique		
	RR	IC à 95%		RR	IC à 95%
nonHDL	3,75	2,03-6,92	LDL cholesterol	0,38	0,20-0,71
nonHDL	1,33	1,10-1,61	Triglycerides*	1,23	1,02-1,49
nonHDL	1,30	0,87-1,95	ApoB	1,14	0,78-1,68
ApoB	1,60	1,13-2,27	LDL cholesterol	0,89	0,61-1,29
ApoB	1,30	1,08-1,56	Triglycerides*	1,25	1,03-1,51
ApoA	0,96	0,70-1,31	HDL cholesterol	0,78	0,56-1,08
ApoB/ApoA	1,64	0,99-2,74	LDL/HDL	0,93	0,56-1,52
ApoB/ApoA	1,3	1,1-1,7	nonHDL	1,2	0,9-1,5

* transformés en log.

Les risques relatifs sont estimés par le modèle des risques proportionnels (un modèle par paire lipidique) pour l'augmentation d'une déviation standard calculée dans la sous-cohorte.

Dans les modèles combinant le nonHDL avec le LDL ou les TG, le nonHDL est prédictif des cardiopathies ischémiques. Dans les modèles combinant l'apoB avec le LDL ou les TG, l'apoB est prédictif des cardiopathies ischémiques. Dans ces associations, les TG sont associés aux évènements coronaires contrairement au LDL. Lorsque le nonHDL et l'apoB sont considérés dans le même modèle, aucun des deux n'est associé avec les cardiopathies ischémiques. Quand les deux lipides antiathérogéniques sont combinés dans le même modèle, aucun des deux ne présentent une association significative avec l'évènement (RR=0,8 IC à 95% = [0,6-1,2] pour l'apoA et RR=0,9 IC à 95% = [0,7-1,4] pour le HDL). Malgré leur degré de corrélation, quand les ratios LDL/HDL et apoB/apoA sont combinés dans le même modèle, le ratio des apolipoprotéines présentent une association avec l'évènement coronaire à la limite de la significativité (RR=1,6 ; IC à 95%=0,99-2,74). Ce ratio d'apolipoprotéines est seul associé aux évènements coronaires (RR=1,3 ; IC à 95%=1,1-1,7) quand le nonHDL est ajouté au modèle.

Les valeurs des index c de Harrell des modèles M0 à M4 comprenant l'âge, le sexe, les centres d'étude, l'IMC, la pression artérielle systolique, le traitement antihypertenseur, le

diabète, le traitement hypolipémiant et un des marqueurs lipidiques et obtenues après 10 séries d'imputations sont affichées dans le tableau 16.

Tableau 16 : Discrimination selon l'index C de Harrell de modèles sans et avec marqueurs lipidiques. Etude des Trois Cités.

	Index C	Déviati on standard	Delta = CX-C0	Déviati on standard	IC 95%du Delta
modèle 0 = age, sexe, centre d'études, indice de masse corporelle, pression artérielle systolique, traitement hypotenseur, diabète, traitement hypolipémiant.	0,710	0,034			
modèle 1 = modèle 0 + LDL-cholestérol et HDL-cholestérol	0,734	0,034	0,024	0,01	0,004-0,044
modèle 2 = modèle 0 + ApoB et ApoA	0,735	0,035	0,025	0,011	0,003-0,047
modèle 3 = modèle 0+ nonHDL	0,736	0,033	0,026	0,01	0,006-0,046
modèle 4 = modèle 0 + ApoB/ApoA	0,731	0,034	0,02	0,006	0,008-0,032

Les C index des modèles contenant un marqueur lipidique sont systématiquement et significativement supérieurs à celui du modèle « basique ». Par ailleurs, il semble que les c index des modèles M1 à M4 soient du même ordre sans pouvoir le tester statistiquement (modèles non emboîtés)

Le tableau 17 décrit le NRI des cas et des non-cas après ajout des apolipoprotéines AI et B100 au modèle de base.

Tableau 17 : Prédiction du risque et reclassification des maladies coronaires utilisant un modèle multivarié de prédiction du risque avec et sans ajout des apolipoprotéines AI et B100.

Sujets sans évènements pendant le suivi (n=7632)						
Prédiction du risque coronaire à 4 ans sans apoA ni apoB	Prédiction du risque coronaire à 4 ans avec apoA et apoB			Reclassification		Net correctly reclassified %
	0-<4,1%	4,1-8,5%	>8,5%	Augmentation du risque	Diminution du risque	
0-<4,1%	5277	473	13			
4,1-8,5%	525	818	156	8,4%	8,5%	+0,1%
>8,5%	3	118	250			
Sujets avec évènements pendant le suivi (n=199)						
Prédiction du risque coronaire à 4 ans sans apoA ni apoB						
0-<4,1%	70	27	2			
4,1-8,5%	12	48	11	20,5%	12%	8,5%
>8,5%	2	10	17			
Net reclassification improvement						8,6%
IC 95%						0,45%-16,65%

L'ajout des apolipoprotéines AI et B100 n'apporte rien sur le plan de la reclassification des non cas (NRI non cas = 0,01%) mais reclassifient 8,5% des cas vers des catégories adéquates. Au total, l'intégration de l'apoA et de l'apoB au modèle de prédiction de base est associée à un NRI de 8,6% (IC à 95%=0,45-16,7)

Comme le montre le tableau 18, l'ajout du LDL et du HDL au modèle basique montre une reclassification similaire à l'ajout des apolipoprotéines mais sans atteindre la signification statistique.

Tableau 18 : Prédiction du risque et reclassification des maladies coronaires utilisant un modèle multivarié de prédiction du risque avec et sans ajout du LDL-cholestérol et du HDL-cholestérol.

Sujets sans évènements pendant le suivi (n=7632)						
Prédiction du risque coronaire à 4 ans sans LDL- ni HDL-cholestérol	Prédiction du risque coronaire à 4 ans avec LDL- et HDL-cholestérol			Reclassification		Net correctly reclassified %
	0-<4,1%	4,1-8,5%	>8,5%	Augmentation du risque	Diminution du risque	
0-<4,1%	5305	448	11			
4,1-8,5%	483	876	139	7,8%	7,7	-0,1%
>8,5%	3	105	262			
Sujets avec évènements pendant le suivi (n=199)						
Prédiction du risque coronaire à 4 ans sans LDL- ni HDL-cholestérol						
0-<4,1%	73	26	0			
4,1-8,5%	11	49	11	18,5%	11,1%	7,4%
>8,5%	0	11	18			
Net reclassification improvement						7,5%
IC 95%						-0,4% ;15,7%

Comme indiqué au tableau 19, l'ajout du nonHDL au modèle basique montre une reclassification similaire à l'ajout des apolipoprotéines mais sans atteindre la signification statistique.

Tableau 19 : Prédiction du risque et reclassification des maladies coronaires utilisant un modèle multivarié de prédiction du risque avec et sans ajout du nonHDL-cholestérol.

Sujets sans évènements pendant le suivi (n=7632)						
Prédiction du risque coronaire à 4 ans sans nonHDL-cholestérol	Prédiction du risque coronaire à 4 ans avec nonHDL-cholestérol			Reclassification		Net correctly reclassified %
	0-<4,1%	4,1-8,5%	>8,5%	Augmentation du risque	Diminution du risque	
0-<4,1%	5346	404	13			
4,1-8,5%	499	868	132	7,2	7,9	0,7%
>8,5%	1	102	267			
Sujets avec évènements pendant le suivi (n=199)						
Prédiction du risque coronaire à 4 ans sans nonHDL-cholestérol						
0-<4,1%	70	29	0			
4,1-8,5%	13	48	9	19,1	13,1	6%
>8,5%	0	13	16			
Net reclassification improvement						6,7%
IC 95%						-1,37% ; 14,92%

En conclusion, sur le plan de la prédiction individuelle du risque coronaire, l'ensemble des marqueurs lipidiques étudiés améliore la discrimination du modèle ne contenant que des facteurs de risque non lipidique. La signification statistique est atteinte pour l'ensemble des marqueurs avec le C de Harrell et avec les apolipoprotéines pour le NRI.

V. Discussion générale

1. Rappel des principaux résultats

Dans cette étude d'observation en population recrutant des personnes âgées non institutionnalisées, les concentrations initiales de plusieurs biomarqueurs sont mises en relation avec la survenue d'évènements coronariens après 4 ans de suivi :

- ✓ les sujets présentant une concentration de CRP-US à l'inclusion entre 3 et 10 mg/L qui représentent près d'un tiers de la sous-cohorte ont un risque de maladies coronaires multiplié par deux par rapport aux sujets présentant une concentration de CRP-US à l'inclusion de moins de 1 mg/L, après ajustement sur les facteurs de risques cardiovasculaires usuels.

- ✓ Les associations entre lipides et cardiopathies ischémiques sont hétérogènes selon le traitement hypolipémiant reçu à l'inclusion. Parmi ceux ne recevant pas de traitement hypolipémiant, le LDL, le nonHDL, l'apoB, les rapports apoB/apoA et LDL/HDL sont tous associés aux cardiopathies ischémiques, indépendamment des facteurs de risque traditionnels et de la CRP-US. Parmi ceux recevant une statine (11,5% de la cohorte), les mêmes paramètres lipidiques sont associés aux cardiopathies ischémiques mais en général de manière plus forte. Enfin, parmi ceux recevant des fibrates (13% de la cohorte), seuls les triglycérides sont des prédicteurs indépendants des cardiopathies ischémiques.

- ✓ Sur le plan de la prédiction individuelle du risque coronaire, les lipides classiques comme les apolipoprotéines discriminent de manière équivalente les sujets à bas et à haut risque, même si des différences statistiquement significatives en termes de reclassification ne sont observées que pour les apolipoprotéines.

2. Discussion autour des résultats concernant la CRP-US

L'association entre la concentration de CRP-US et les événements coronaires est reportée dans de nombreuses études d'observation incluant des métaanalyses parmi les sujets d'âge moyen (33-36). Cependant cette question n'est explorée parmi les personnes âgées non institutionnalisées que par un faible nombre d'études qui rapportent des résultats non concordants (44-49). Des associations non significatives sont rapportées dans la Health ABC Study qui inclue des individus âgés de 70 à 79 ans suivis pendant quatre ans, dans la Cardiovascular Health Study qui inclue des sujets âgés de 65 ans et plus suivis pendant trois ans, ainsi que dans la Rotterdam Study dont les participants sont âgés de plus de 55 ans et suivis pendant 5 à 8 ans (44, 47, 49). En revanche, une association indépendante entre concentration de CRP-US et événements coronaires incidents est reportée dans trois études. Dans l'Edinburgh Artery Study qui inclue des sujets âgés de 55 à 74 ans suivis pendant 17 ans, ceux qui présentent une concentration de CRP-US dans le tertile le plus haut ($>2,88\text{mg/L}$) ont une augmentation de risque d'infarctus du myocarde de 62% comparés à ceux qui présentent une concentration dans le tertile le plus faible ($<1,11\text{mg/L}$) (48). Dans une étude cas-témoins incluse nichée dans la Women's Health Initiative qui inclut des femmes âgées de 50 à 79 ans, une concentration de CRP-US supérieure à $4,7\text{mg/L}$ est associée à un doublement du risque de maladies coronaires après de multiples ajustements (46). Enfin, une nouvelle analyse des données de la Cardiovascular Health Study utilisant les données disponibles de dix ans de suivi aboutit à une association significative entre la concentration de CRP-US et les événements coronaires, avec une augmentation du risque de cardiopathies ischémiques de 45% parmi les sujets présentant une CRP-US entre 3 et 10mg/L (45).

Ce présent travail est le deuxième après la Cardiovascular Health Study à présenter l'avantage de porter sur un large effectif, d'inclure des hommes et des femmes et de couvrir

un large éventail d'âge (de 65 à 98 ans), De plus, l'étude est réalisée dans un pays européen présentant une faible incidence de maladies coronaires. Nous observons que l'association entre concentration de CRP-US et maladies coronaires est similaire chez les sujets très âgés (plus de 74 ans), contrairement à ce qui est rapporté pour la plupart des facteurs de risque cardiovasculaires (39-40). L'association entre concentration de CRP-US et risque de maladies coronaires est retrouvée plus forte chez la femme alors que le niveau moyen de la plupart des facteurs de risque incluant l'âge, le cholestérol, l'IMC, l'épaisseur de l'intima media, la présence de diabète ou d'intolérance au glucose, la présence de plaques est significativement plus faible (plus forte pour le HDL cholestérol) comparativement aux hommes. De plus, les femmes utilisent des anti-inflammatoires non stéroïdiens plus fréquemment que les hommes et consomment de l'aspirine autant que les hommes. Une plus grande fréquence d'arthrite chez les femmes ne peut être exclue mais cette information n'est pas disponible. Cependant, les volontaires de cette étude se déplaçaient jusqu'au centre d'examen pour le recrutement et les visites de suivi, il est donc peu probable que des sujets avec de l'arthrose aient pu être inclus dans l'étude. Dans la Cardiovascular Health Study, un résultat similaire, c'est-à-dire une association entre CRP-US et maladies coronaires plus forte parmi les femmes, est mise en évidence dans l'analyse des données après trois ans de suivi. Cette différence n'est plus observée après dix ans de suivi (45).

Les fréquences observées des traitements pharmacologiques sont celles attendues dans une telle population avec près de la moitié des sujets qui sont soignés avec des antihypertenseurs. Malgré une forte association entre antihypertenseurs et CRP-US dans cette étude, la concentration de CRP-US reste associée aux maladies coronaires indépendamment de l'utilisation de ces médicaments. En outre, nous n'observons pas de nette différence dans l'association entre concentration de CRP-US et maladies coronaires selon la présence ou non d'athérosclérose subclinique évaluée ici par l'épaisseur de l'intima media ou la présence de plaques. A l'inverse, dans une analyse récente de la Cardiovascular Health Study, la CRP-US est associée aux maladies cardiovasculaires

(infarctus du myocarde et accident vasculaire cérébral) et avec la mortalité toute cause uniquement parmi les sujets présentant une athérosclérose détectable (plaque à haut risque et forte épaisseur de l'intima media) (69). Cependant, une comparaison entre ces deux études paraît difficile puisque les données qualitatives des plaques carotidiennes (l'écho-caractérisation) ne sont pas disponibles dans l'étude des Trois Cités d'une part, à cause des différences de temps de suivi (4 ans versus 11 ans) d'autre part, et enfin à cause de la différence de type d'évènements (maladies coronaires versus maladies cardiovasculaires et mortalité totale). Néanmoins, il paraît nécessaire d'étudier l'éventuelle interrelation entre concentration de CRP-US, l'athérosclérose subclinique et le risque de maladies coronaires parmi les sujets âgés.

La classe des sujets présentant une CRP-US > 10 mg/L ne contient que 25 évènements coronariens incidents, suggérant un manque de précision dans l'estimation du risque relatif. Il est habituellement admis que les valeurs de CRP-US > 10 mg/L indiquent une inflammation aiguë, ce qui explique l'analyse séparée de cette catégorie (37). Cette classe de sujets présente des risques relatifs plus forts dans les analyses présentées dans cette thèse. Ceci peut expliquer pourquoi les sujets atteints de maladies systémiques de type inflammatoire présentent un profil cardiovasculaire à haut risque (70). En outre, une CRP-US > 10 mg/L peut refléter une maladie artérielle subclinique. Au total, les valeurs de CRP-US > 10 mg/L méritent d'être évaluées pour prédire le risque de maladies coronaires chez les personnes âgées.

Malgré une association significative entre concentration de CRP-US et maladies coronaires dans ce présent travail, la CRP-US améliore modestement la capacité discriminatoire d'un modèle multivarié prédisant le risque coronaire et incluant les facteurs de risque traditionnels. Ce résultat est cohérent avec ce qui est été rapporté dans d'autres études (32, 69, 71) mais nécessiterait des explorations plus poussées telles que celles effectuées pour les lipides dans cette présente thèse.

Savoir si la CRP-US est facteur causal des maladies coronaires reste un débat. Les résultats récents de l'essai JUPITER suggèrent un effet bénéfique d'un traitement par statine (la rosuvastatine) sur la prévention des maladies cardiovasculaires parmi des personnes présentant un taux de LDL cholestérol normal mais une concentration de CRP-US modérément élevée (72). D'après les données de la National Health And Nutrition Examination Survey, appliquer les caractéristiques de JUPITER à la population américaine aboutirait à une augmentation de 20% de personnes traitées par statine (73). Cette augmentation atteint les 80% en considérant uniquement les personnes âgées. Traiter par rosuvastatin la population des Etats-Unis présentant les mêmes caractéristiques que les sujets de JUPITER permettrait de diminuer de 500000 le taux d'évènements vasculaires majeurs (74). Cependant, dans cet essai, la part de diminution du risque directement attribuable à la diminution de la concentration de CRP-US reste à démontrer. Tester directement l'hypothèse inflammatoire de l'athérosclérose nécessite un agent qui inhibe directement l'inflammation sans influencer sur les autres composants du processus d'athérosclérose. Cet agent devra aussi posséder une sécurité d'utilisation acceptable pour son utilisation dans une étude d'intervention. Ainsi, le CIRT (Cardiovascular Inflammation Reduction Trial) propose de tester le méthotrexate à de très faibles doses (10 mg par semaine) dans un essai randomisé contre placebo à des patients coronariens présentant une élévation persistante de la concentration de CRP-US (70). Le méthotrexate est choisi par cette équipe pour son activité anti-inflammatoire connue sur les taux de $\text{TNF}\alpha$, d'IL-6 et de CRP-US ainsi que son utilisation courante chez les patients présentant une polyarthrite rhumatoïde.

Les résultats récents d'études génétiques permettent de tester la possibilité d'un lien causal entre niveau de CRP-US et athérosclérose ou cardiopathies ischémiques. Par exemple, les résultats d'un premier consortium identifient 11 nouveaux loci et confirment 7 loci affectant la concentration de CRP-US (75). Ces résultats mettent en évidence que les

voies de réponses immunitaires et de régulations métaboliques influencent la régulation de l'inflammation chronique. De plus, il est montré que le loci LEPR affecte la concentration CRP-US différemment selon le niveau d'IMC ce qui apporte de nouvelles hypothèses dans le mécanisme de l'inflammation. Grâce à leur localisation aléatoire à la conception, les SNPs identifiés comme liés à la concentration de CRP-US, peuvent être utilisés comme marqueurs de CRP-US sans phénomène de confusion. Cette méthode est basée sur les lois de Mendel et est donc appelée « randomisation Mendélienne ». Cette approche nécessite l'existence de variants génétiques dont l'association avec l'exposant non génétique (ici la CRP-US) est montrée de manière robuste. Les résultats de randomisation Mendélienne entre CRP-US et maladies coronaires peuvent ainsi présenter un argument de causalité mais les résultats de telles études ne sont pas cohérents entre eux en partie à cause d'un manque de puissance statistique (76-78). Une étude récente utilisant l'approche par randomisation mendélienne basée sur une méta analyse sur données individuelles suggère un rôle causal modeste de la concentration de la CRP-US dans la survenue des cardiopathies ischémiques (38).

3. Discussion autour des résultats d'association entre lipides et cardiopathies ischémiques par type de traitement hypolipémiant déclaré à l'inclusion

Nous avons peu de connaissances sur le taux de prescription des statines chez la personne âgée en prévention primaire et les données sont variables selon les études. Seulement 2% (8% parmi ceux avec des antécédents de maladies cardiovasculaires) des survivants de la Whitehall Study II sont traités par statine en 1997 (42). Ce taux atteint les 20% entre 1998 et 2000 parmi les participants de la Beaver Dam Eye Study et de la Epidemiology of Hearing Loss Study (79). Le taux de personnes traitées par statines dans l'étude des Trois Cités se situe entre les taux cités précédemment et correspond au taux rapportés dans l'EVA study, une autre étude française en population dédiée notamment à l'investigation des déterminants de l'athérosclérose chez des sujets de 59 à 71 ans et dont le recrutement s'est déroulé entre 1991 et 1993 (80).

Contrairement à la population d'adultes d'âge moyen, il subsiste des doutes concernant l'association entre lipides et cardiopathies ischémiques incidentes chez la personne âgée. Par exemple, chez les survivants de l'étude Whitehall qui sont des hommes âgés de 77 ans en moyenne, des taux élevés de CHT, de LDL et d'apoB sont associés à une surmortalité par cardiopathies ischémiques après 7 ans de suivi (42). Ces associations sont mises en évidence chez des sujets sans antécédents de maladies cardiovasculaires, c'est-à-dire 75% de la population d'étude, alors que la tendance inverse (bien que non significative statistiquement) est observée parmi les sujets avec antécédents de maladie cardiovasculaire. Dans l'étude Cardiovascular Health Study, qui a inclus des hommes et des femmes âgés de 65 ans et plus, le CHT, le LDL et les TG sont faiblement associés et souvent de manière marginale aux maladies cardiovasculaires (incluant l'infarctus du myocarde, l'accident vasculaire cérébral) et à la mortalité totale durant les 7 ans et demi de suivi (41).

Dans cette présente étude, nous pouvons aussi donner quelques résultats différentiels selon le type d'évènements, fatals ou non. Les apolipoprotéines et les lipides classiques sont tous associés à la morbidité mais seules les apolipoprotéines sont associées à la mortalité par cardiopathies ischémiques. Contrairement à la Cardiovascular Health Study, les lipides antiathérogéniques sont aussi protecteurs de la mortalité coronaire (41).

Par rapport aux études citées précédemment, cette présente étude étend l'analyse en séparant ceux qui sont traités par un hypolipémiant à l'inclusion de ceux qui n'en reçoivent pas. Tous les lipides, à l'exception de l'apoA et du HDL, sont associés de manière indépendante aux maladies coronaires parmi les sujets non traités par un hypolipémiant à l'inclusion. Les résultats concernant l'HDL sont concordants avec ceux d'une étude ancillaire de JUPITER testant l'association entre HDL et cardiopathies ischémiques dans les deux groupes de traitement (rosuvastatine ou placebo) (81). Les résultats concernant tous les lipides corroborent de manière indirecte les bénéfices d'une thérapie par statines pour diminuer les maladies cardiovasculaires parmi la population de personnes âgées ayant participé aux études PROSPER et AFCAPS/TexCAPS (43, 82). Les lipides restent aussi des prédicteurs indépendants des cardiopathies ischémiques parmi les sujets traités par statines, possiblement avec une force d'association plus forte que celle observée en l'absence de traitement hypolipémiant. Ce résultat peut être le reflet d'un manque de compliance au traitement par statines qui en lui-même peut augmenter le risque de cardiopathies ischémiques (83). Une précédente analyse de l'étude des Trois Cités indique cependant que l'exposition aux médicaments et la compliance aux traitements sont correctes (58). Parmi les sujets prenant une statine à l'inclusion, nous recherchons des différences dans les caractéristiques générales initiales pouvant expliquer pourquoi certains sujets présentent encore une concentration élevée en lipides. En fait, les caractéristiques initiales des sujets traités par statines et avec un taux de LDL au-dessus ou en-dessous de la valeur médiane (3,7 mmol/L, correspondant approximativement à la valeur cible thérapeutique de 130

mg/dL) ne sont pas différentes selon l'âge, le sexe, la présence de troubles du sommeil, le score MMSE (Mini Mental State Examination), l'existence de symptômes dépressifs, les activités physiques, le nombre de médicaments en cours d'utilisation ou la fonction rénale. Les effets indésirables sous traitement par statines sont décrits de manière plus fréquente chez les femmes, cause probable d'un arrêt de traitement plus fréquent que chez les hommes (84). Dans cette présente étude cependant, la proportion de LDL normalisé lors d'un traitement par statines d'une part, et le type d'associations entre lipides et cardiopathies ischémiques d'autre part, sont comparables entre les deux sexes. Une autre hypothèse serait que les sujets traités par statines peuvent présenter des maladies chroniques, un niveau de risque cardiovasculaire plus élevé (biais d'indication). Cependant, les résultats restent inchangés après ajustement sur les caractéristiques initiales ou lorsque ceux décédés au cours de deux premières années d'études sont exclus. Ainsi, cette présente étude suggère que malgré le traitement par statines, il subsiste un risque résiduel substantiel de cardiopathies ischémiques associé d'une certaine manière aux niveaux de lipides.

Les associations reportées ici entre les niveaux de lipides lors d'un traitement par statines et les cardiopathies ischémiques corroborent celles obtenues récemment parmi les sujets d'âge moyen dans des analyses post-hoc d'essais randomisés contrôlés en prévention primaire et secondaire (85-87). A l'inverse, ces résultats sont contradictoires avec ceux de l'analyse post-hoc de l'étude PROSPER qui a inclus des sujets âgés de 70 à 82 ans. Dans cette analyse, ni les lipides standards ni les niveaux d'apolipoprotéines A1 ou B100 après 3 mois de traitements par statines ne prédisent les cardiopathies ischémiques après 3,2 ans de suivi (88). Cet essai, pourtant, est constitué de sujets âgés avec un antécédent de maladies cardiovasculaires ou qui sont à haut risque de cardiopathies ischémiques, contrairement à notre population d'étude. De plus, cette présente thèse suggère que les associations entre lipides et événements coronaires sont différentes entre les sujets traités par statines et ceux traités par fibrates. Parmi ces derniers, les triglycérides sont les seuls lipides prédictors des cardiopathies ischémiques après ajustement sur les

facteurs de risque non lipidiques, le LDL et le nonHDL. Cette hétérogénéité peut refléter les différences de caractéristiques à l'inclusion entre les sujets traités par statines ou fibrates. Les sujets traités par fibrate sont moins éduqués et plus diabétiques alors que les sujets traités par statines sont moins consommateurs d'alcool comparés à ceux ne prenant pas d'hypolipémiant. Cependant, l'ajustement sur ces différentes variables n'élimine pas l'hétérogénéité apparaissant dans cette présente étude. Cette hétérogénéité peut tout simplement refléter l'indication différentielle de chaque médicament, c'est-à-dire hypercholestérolémie pour les statines et hypertriglycémie pour les fibrates. Il est important de se rappeler que l'indication du traitement n'est pas notée dans les caractéristiques à l'inclusion. Des études supplémentaires parmi les personnes âgées et parmi les sujets adultes d'âge moyen seraient nécessaires pour confirmer et explorer les mécanismes d'une telle hétérogénéité.

Les résultats de cette présente thèse et des études antérieures soulignent un point important de la thérapie par statines, à savoir que l'abaissement du niveau cible de LDL diminuerait encore les risques de cardiopathies ischémiques attribuables aux lipides. Les résultats récents de l'essai SAGE, comparant l'atorvastatine 80mg/jour à la pravastatine 40mg/jour, suggèrent qu'une thérapie intensive par statines est bénéfique et bien tolérée chez les hommes et femmes âgés avec une cardiopathie ischémique (89). A l'heure actuelle, à l'exception d'une analyse post-hoc chez les sujets normolipémiques de plus de 70 ans de l'étude JUPITER, les bénéfices d'une telle stratégie parmi les sujets âgés en prévention primaire ne sont pas connus et nécessitent d'être montrés dans un essai randomisé (90). La combinaison d'une thérapie par statines avec d'autres agents régulant le taux de lipides ou un régime hypolipémiant agressif et des modifications du style de vie pourrait être une option avec de meilleurs bénéfices que ceux obtenus avec une unique thérapie par statines. De plus, pour les sujets recevant déjà des fibrates, la meilleure stratégie préventive contre les cardiopathies ischémiques est aussi à évaluer.

4. Discussion des résultats autour de l'utilité des lipides dans la prédiction du risque de cardiopathies ischémiques chez la personne âgée.

A notre connaissance, aucune étude spécifique de la personne âgée n'évalue l'utilité prédictive des apolipoprotéines ou du nonHDL-cholestérol pour le risque de cardiopathies ischémiques par comparaison aux lipides classiques. Quelques données existent sur cette question chez les sujets d'âge moyen. En effet, E. Ingelsson, *et al.* évaluent l'utilité des apolipoprotéines dans l'étude de Framingham dont les sujets sont âgés de 30 à 74 ans (54). Après 15 ans de suivi et 291 événements coronariens, le ratio apoB/apoA prédit les cardiopathies ischémiques dans un modèle ajusté sur les facteurs de risque non lipidiques. En revanche, ce ratio ne montre pas d'utilité par rapport au ratio CT/HDL dans un modèle comprenant tous les composants du score de risque de Framingham. Comparé au ratio d'apolipoprotéines, le nonHDL présente une moindre performance. D'après les résultats de courbe ROC dans l'étude cas-témoins internationale INTERHEART, le ratio apoB/apoA est un meilleur marqueur de risque d'infarctus du myocarde que le ratio CHT/HDL parmi tous les groupes ethniques et dans les deux sexes (10). Dans cette étude, le ratio d'apolipoprotéines est aussi lié à l'infarctus du myocarde dans les classes d'âge les plus élevées (66-70 et > 70 ans) contrairement au ratio de cholestérol. D'autres études comparent les forces d'association des lipides avec la maladie coronaire mais sans aborder la question de leur utilité prédictive. Ainsi, dans la Health Professional Follow-up Study qui inclut des hommes de 40 à 75 ans, T. Pischon *et al.* effectuent des comparaisons directes par paire lipidique et montre que le nonHDL est plus fortement associé aux cardiopathies ischémiques que le LDL. De plus, l'apoB est associé à une augmentation du risque de cardiopathies ischémiques même après ajustement sur le LDL ou le nonHDL, malgré les fortes corrélations entre ces variables (26). Enfin, dans une méta-analyse étudiant la relation entre la baisse du nonHDL et la réduction du risque de cardiopathies ischémiques, JG Robinson *et al* montrent

que chez l'adulte d'âge moyen, il existe une relation entre la diminution du nonHDL et la réduction du risque de cardiopathies ischémiques (31).

Nos résultats de séries de comparaison de paires suggèrent que le nonHDL et l'apoB sont des prédicteurs supérieurs au LDL. En revanche, aucun de ces deux marqueurs fortement corrélés entre eux ne présentent une association plus forte avec les cardiopathies ischémiques quand ils sont tous deux présents dans le même modèle. Il est à noter que les TG, moins fortement corrélés avec le nonHDL et l'apoB, gardent l'association avec les événements coronaires dans les modèles comprenant l'un de ces deux marqueurs. Dans la Health Professional Follow_up Study mentionnée précédemment, les TG restent associés aux cardiopathies ischémiques indépendamment du LDL et du nonHDL, mais pas de l'apoB (26). Enfin dans cette thèse, lorsque l'on considère les ratios de molécules proathérogéniques et antiathérogéniques, il apparaît que ces ratios restent associés aux cardiopathies ischémiques dans les modèles contenant soit le ratio de LDL/HDL soit le nonHDL.

Le LDL est une mesure incomplète des molécules athérogéniques. Il est mesuré ici indirectement au moyen de la formule de Friedwald, valable uniquement pour les sujets ayant une valeur de TG inférieure à 4,5 g/L (5,08 mmol/L). C'est pourquoi il est important de s'intéresser à d'autres mesures plus complètes de molécules athérogéniques comme l'apoB et le nonHDL mesuré par la soustraction du HDL au cholestérol total. Ces deux mesures représentent en effet toutes les particules athérogéniques comprenant des triglycérides (les LDL mais aussi VLDL et IDL). Sous des conditions normolipémiques, la majorité du cholestérol athérogénique est présent dans les particules de LDL ce qui aboutit à une très forte corrélation entre le LDL et le nonHDL (87). La concordance entre le LDL et le nonHDL diminue lorsque les lipoprotéines riches en triglycérides s'accumulent dans la circulation sanguine, une condition réalisée lors d'une augmentation plasmatique de triglycérides. Ceci pris en considération, l'utilisation du nonHDL est restreinte aux sujets présentant une

hypertriglycémie faible ou modérée. Les apolipoprotéines quant à elles, représentent l'avantage d'être mesurées de manière directe, simple et standardisée. De plus, les sujets prélevés pour les mesures d'apolipoprotéines n'ont pas nécessité d'être à jeûn. Savoir lequel du nonHDL ou de l'apoB est le meilleur marqueur de cardiopathies ischémiques est une question difficile à élucider. L'ATPIII conclut que l'apoB et le nonHDL sont équivalents en termes de prédiction de risque, notamment parce que ces deux mesures sont très fortement corrélées (51). Dans notre étude, nous mettons effectivement, en évidence des associations semblables avec les cardiopathies ischémiques pour l'apoB et le nonHDL. On pourrait penser qu'en situation d'hypertriglycémie comme dans le cas du syndrome métabolique, du fait d'une corrélation plus faible entre le nonHDL et le LDL, l'association du nonHDL avec les cardiopathies ischémiques soit moins forte que celle observée avec l'apoB. Dans notre étude cependant, ces différences d'associations n'ont pas été retrouvées (résultats non montrés).

Savoir si les TG sont liés de manière causale aux cardiopathies ischémiques reste une question non résolue. En utilisant la méthode de la randomisation mendélienne, les résultats d'une récente métaanalyse indiquent que l'association entre TG et cardiopathies ischémiques est médiée par le LDL ou le nonHDL (22).

Dans cette thèse, deux méthodes de discrimination sont utilisées pour l'étude de la valeur prédictive des lipides et lipoprotéines: le c de Harrell et le NRI ou Net Reclassification Improvement. Il est important que les modèles testés par des méthodes de prédiction soient emboîtés pour pouvoir tirer des conclusions sur l'intérêt supplémentaire d'un marqueur. Dans ce travail, des modèles comprenant un type de lipide sont comparés à un modèle ne contenant que des facteurs de risque cardiovasculaire traditionnels non lipidiques. Les lipides ne sont pas comparés entre eux tels que cela est fait dans l'étude de Framingham (54). En effet, il paraît difficile de pouvoir apporter une conclusion à l'utilité supplémentaire

des apolipoprotéines ou du nonHDL en les ajoutant à un modèle contenant les lipides classiques portant la même information et très corrélés. Tous les marqueurs lipidiques améliorent la discrimination du modèle basique explorée au moyen de l'index C de Harrell. Bien que les niveaux de NRI sont similaires entre eux, seuls les NRI associés aux apolipoprotéines sont significatifs. Cette apparente discordance entre les 2 indices de discrimination peut être liée à un défaut de puissance pour le NRI en raison du découpage en classes du niveau de risque.

5. Limites et forces de l'étude

Nos analyses présentent des limites. De manière générale, la population volontaire de l'étude des Trois Cités n'est pas tout à fait représentative de la population générale de même âge. Cette population a probablement moins de facteurs de risque et plus de dépenses liées à la santé. Cela explique en partie le relatif faible nombre de cardiopathies ischémiques à 4 ans. Les analyses portent sur des événements apparus en quatre ans de suivi mais l'association entre concentration de CRP-US ou autres marqueurs et maladies coronaires peut être différente sur un terme plus long. Par exemple, dans la Cardiovascular Health Study les auteurs observent une différence d'association entre CRP-US et événements coronaires selon le sexe après 3 ans de suivi et qui disparaissent après 10 ans de suivi (45, 47). Dans notre étude, nous ne disposons que de la mesure initiale de chaque marqueur, et ne pouvons donc pas prendre en compte leur variabilité éventuelle. Il est important de se rappeler que les informations concernant les traitements pris à l'inclusion ne comportent ni la posologie ni la durée du traitement. Comme dans toute étude d'observation comportant des prescriptions médicamenteuses, l'étude d'association des marqueurs lipidiques avec la maladie coronaire chez les sujets traités par statines ou fibrates s'expose à un biais d'indication. En effet, il est possible que les sujets de 3C ayant une prescription de statine ou fibrate présentent des caractéristiques particulières par rapport aux sujets non traités, conduisant possiblement à un biais de sélection.

Cette étude présente aussi plusieurs forces. En premier lieu, l'étude des Trois Cités est la seule étude française recrutant de manière prospective un tel effectif (près de 10000) de personnes âgées non institutionnalisées des deux sexes et avec un large éventail d'âge (65 à 98 ans). Ce recrutement et l'éventail d'âge est comparable à celui de la Cardiovascular Health Study. En deuxième lieu, les facteurs de risque cardiovasculaires classiques ont été récoltés à l'inclusion ce qui permet de les utiliser en facteurs d'ajustement. Sur le plan

statistique, nous avons pu comparer des techniques récentes de discrimination telles que les mesures de reclassification aux mesures plus classiques telles que les courbes ROC. Il existe très peu d'exemples d'utilisation des techniques de discrimination et notamment de reclassification, dans le cadre d'une étude cas-cohorte. Dans ce contexte et en collaboration avec une équipe de biostatisticiens, nous avons proposé une stratégie d'analyse basée sur des imputations multiples.

6. Perspectives

Nos résultats sur la CRP-US, les lipides et apolipoprotéines chez la personne âgée doivent être validés dans d'autres études. Nos résultats évoquent un risque résiduel de cardiopathies ischémiques associés aux concentrations de lipides sous statines. Se pose alors la question du meilleur traitement pour traiter les hyperlipidémies chez le sujet âgé et notamment de la cible thérapeutique, et s'il est bénéfique et sans risque de traiter ces sujets par de fortes doses de statines (89, 91).

Par ailleurs, les connaissances physiopathologiques dans le domaine de l'athérosclérose et dans les déterminants des cardiopathies ischémiques se sont développées et un nombre important de marqueurs biologiques prédictifs de la survenue d'un évènement coronaire ont été mis en évidence dans pratiquement tous les domaines de la biologie et plus particulièrement de l'inflammation, l'hémostase, la biologie vasculaire et les hormones (92). Par conséquent, l'étude simultanée de biomarqueurs appartenant à des domaines physiopathologiques complémentaires (approche multimarqueurs) pourrait permettre de mieux refléter la nature multifactorielle de l'athérosclérose et peut être d'améliorer les propriétés des algorithmes de prédiction (93-94). Une telle approche pourrait être proposée dans le cadre de l'étude des Trois Cités si une nouvelle vague de dosages biologiques est réalisée. L'extension du suivi à 10 ans devrait par ailleurs permettre d'augmenter sensiblement la puissance statistique des analyses. La pertinence clinique et économique de cette approche multimarqueurs devra être évaluée. Cette évaluation repose sur 2 questions complémentaires :

(1) est ce que l'estimation systématique du risque cardiovasculaire individuel au final modifie la prise en charge et diminue le risque par rapport à une approche habituelle ?

(2) est ce que l'approche proposée est coût –efficace ?

VI. Conclusion

Les résultats de cette thèse, de plusieurs études réalisées parmi des adultes d'âge moyen ou des personnes âgées, ainsi qu'une métaanalyse sur données individuelles indiquent que la concentration de CRP-US est associée au risque de cardiopathies ischémiques. Dans cette étude comme dans d'autres, la CRP-US ne fait cependant pas preuve d'une utilité prédictive.

Cette thèse met aussi en évidence une hétérogénéité d'association entre lipides, apolipoprotéines et cardiopathies ischémiques selon le traitement hypolipémiant pris par les sujets à l'inclusion. En l'absence de traitement hypolipémiant, les lipides classiques, le nonHDL-cholestérol et l'apolipoprotéine B100 sont des prédicteurs indépendants des maladies coronaires. Chez les sujets traités par statines, ces associations persistent et apparaissent plus fortes. Chez les sujets traités par fibrates, les triglycérides paraissent être les seuls prédicteurs indépendants des cardiopathies ischémiques. Ces résultats doivent être confirmés dans d'autres études car ils posent notamment la question de la cible thérapeutique et d'une éventuelle intensification du traitement hypolipémiant.

Enfin, nos résultats permettent d'étudier la place d'un large panel de marqueurs lipidiques dans la prédiction du risque coronaire et suggèrent que les lipides classiques comme les apolipoprotéines sont utiles à la prédiction du risque coronaire chez la personne âgée.

VII. Bibliographie

1. Robert-Bobée I. Projections de population pour la France métropolitaine à l'horizon 2050: INSEE 2006 Contract No.: n°1089.
2. World population ageing. New-York: United Nations 2002.
3. Cottart CH, Laguillier C, Nivet-Antoine V, Klimczak C, Sebban C, Beaudeau JL. [Biology of arterial ageing and arteriosclerosis]. C R Biol. 2009 May;332:433-47.
4. Benetos A. [Accelerators of arterial aging]. Rev Med Interne. 2006 Jun;27 Suppl 2:S44-5.
5. Benetos A, Adamopoulos C, Bureau JM, Temmar M, Labat C, Bean K, Thomas F, Pannier B, Asmar R, Zureik M, Safar M, Guize L. Determinants of accelerated progression of arterial stiffness in normotensive subjects and in treated hypertensive subjects over a 6-year period. Circulation. 2002 Mar 12;105:1202-7.
6. Aviv A, Levy D, Mangel M. Growth, telomere dynamics and successful and unsuccessful human aging. Mech Ageing Dev. 2003 Jul;124:829-37.
7. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. Lancet. 2003 Feb 1;361:393-5.
8. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. Circulation. 1998 May 12;97:1837-47.
9. Sniderman AD, St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, Despres JP, Lamarche B. Concordance/discordance between plasma apolipoprotein B levels and the cholesterol indexes of atherosclerotic risk. Am J Cardiol. 2003 May 15;91:1173-7.
10. McQueen MJ, Hawken S, Wang X, Ounpuu S, Sniderman A, Probstfield J, Steyn K, Sanderson JE, Hasani M, Volkova E, Kazmi K, Yusuf S. Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins as risk markers of myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): a case-control study. Lancet. 2008 Jul 19;372:224-33.
11. Libby P, Sukhova G, Lee RT, Galis ZS. Cytokines regulate vascular functions related to stability of the atherosclerotic plaque. Journal of cardiovascular pharmacology. 1995;25 Suppl 2:S9-12.

12. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *The New England journal of medicine*. 1999 Jan 14;340:115-26.
13. Kritchevsky SB, Cesari M, Pahor M. Inflammatory markers and cardiovascular health in older adults. *Cardiovascular research*. 2005 May 1;66:265-75.
14. Stamler J, Wentworth D, Neaton JD. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356,222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *Jama*. 1986 Nov 28;256:2823-8.
15. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, Kirby A, Sourjina T, Peto R, Collins R, Simes R. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*. 2005 Oct 8;366:1267-78.
16. Delahoy PJ, Magliano DJ, Webb K, Grobler M, Liew D. The relationship between reduction in low-density lipoprotein cholesterol by statins and reduction in risk of cardiovascular outcomes: an updated meta-analysis. *Clin Ther*. 2009 Feb;31:236-44.
17. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, Jacobs DR, Jr., Bangdiwala S, Tyroler HA. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation*. 1989 Jan;79:8-15.
18. Niesor EJ. Different effects of compounds decreasing cholesteryl ester transfer protein activity on lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2011 Aug;22:288-95.
19. Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, Wood AM, Lewington S, Sattar N, Packard CJ, Collins R, Thompson SG, Danesh J. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *Jama*. 2009 Nov 11;302:1993-2000.
20. Abourbih S, Filion KB, Joseph L, Schiffrin EL, Rinfret S, Poirier P, Pilote L, Genest J, Eisenberg MJ. Effect of fibrates on lipid profiles and cardiovascular outcomes: a systematic review. *Am J Med*. 2009 Oct;122:962 e1-8.
21. Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, Forder P, Pillai A, Davis T, Glasziou P, Drury P, Kesaniemi YA, Sullivan D, Hunt D, Colman P, d'Emden M, Whiting M, Ehnholm C, Laakso M. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet*. 2005 Nov 26;366:1849-61.
22. Sarwar N, Sandhu MS, Ricketts SL, Butterworth AS, Di Angelantonio E, Boekholdt SM, Ouwehand W, Watkins H, Samani NJ, Saleheen D, Lawlor D, Reilly MP, Hingorani AD, Talmud PJ, Danesh J. Triglyceride-mediated pathways and coronary disease: collaborative analysis of 101 studies. *Lancet*. 2010 May 8;375:1634-9.

23. Luc G, Bard JM, Ferrieres J, Evans A, Amouyel P, Arveiler D, Fruchart JC, Ducimetière P. Value of HDL cholesterol, apolipoprotein A-I, lipoprotein A-I, and lipoprotein A-I/A-II in prediction of coronary heart disease: the PRIME Study. Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2002 Jul 1;22:1155-61.
24. Marcovina SM, Albers JJ, Dati F, Ledue TB, Ritchie RF. International Federation of Clinical Chemistry standardization project for measurements of apolipoproteins A-I and B. Clin Chem. 1991 Oct;37:1676-82.
25. Benn M, Nordestgaard BG, Jensen GB, Tybjaerg-Hansen A. Improving prediction of ischemic cardiovascular disease in the general population using apolipoprotein B: the Copenhagen City Heart Study. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2007 Mar;27:661-70.
26. Pischon T, Girman CJ, Sacks FM, Rifai N, Stampfer MJ, Rimm EB. Non-high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the prediction of coronary heart disease in men. Circulation. 2005 Nov 29;112:3375-83.
27. van der Steeg WA, Boekholdt SM, Stein EA, El-Harchaoui K, Stroes ES, Sandhu MS, Wareham NJ, Jukema JW, Luben R, Zwinderman AH, Kastelein JJ, Khaw KT. Role of the apolipoprotein B-apolipoprotein A-I ratio in cardiovascular risk assessment: a case-control analysis in EPIC-Norfolk. Ann Intern Med. 2007 May 1;146:640-8.
28. Ridker PM, Rifai N, Cook NR, Bradwin G, Buring JE. Non-HDL cholesterol, apolipoproteins A-I and B100, standard lipid measures, lipid ratios, and CRP as risk factors for cardiovascular disease in women. Jama. 2005 Jul 20;294:326-33.
29. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). Jama. 2001 May 16;285:2486-97.
30. Santé Agence Française de Sécurité SANitaire des Produits de Santé. Prise en charge thérapeutique du patient dyslipidémique. Saint-Denis: AFSSAPS; 2005.
31. Robinson JG, Wang S, Smith BJ, Jacobson TA. Meta-analysis of the relationship between non-high-density lipoprotein cholesterol reduction and coronary heart disease risk. J Am Coll Cardiol. 2009 Jan 27;53:316-22.
32. Lloyd-Jones DM, Liu K, Tian L, Greenland P. Narrative Review: Assessment of C-Reactive Protein in Risk Prediction for Cardiovascular Disease. Ann Intern Med. 2006 Jun 5;145:35-42.
33. Luc G, Bard JM, Juhan-Vague I, Ferrieres J, Evans A, Amouyel P, Arveiler D, Fruchart JC, Ducimetière P. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of

coronary heart disease: the PRIME Study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2003 Jul 1;23:1255-61.

34. Pai JK, Pischon T, Ma J, Manson JE, Hankinson SE, Joshipura K, Curhan GC, Rifai N, Cannuscio CC, Stampfer MJ, Rimm EB. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *The New England journal of medicine*. 2004 Dec 16;351:2599-610.

35. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *The New England journal of medicine*. 2002 Nov 14;347:1557-65.

36. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GD, Pepys MB, Gudnason V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *The New England journal of medicine*. 2004 Apr 1;350:1387-97.

37. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC, Jr., Taubert K, Tracy RP, Vinicor F. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003 Jan 28;107:499-511.

38. Wensley F, Gao P, Burgess S, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Shah T, Engert JC, Clarke R, Davey-Smith G, Nordestgaard BG, Saleheen D, Samani NJ, Sandhu M, Anand S, Pepys MB, Smeeth L, Whittaker J, Casas JP, Thompson SG, Hingorani AD, Danesh J. Association between C reactive protein and coronary heart disease: mendelian randomisation analysis based on individual participant data. *BMJ*. 2011;342:d548.

39. Kronmal RA, Cain KC, Ye Z, Omenn GS. Total serum cholesterol levels and mortality risk as a function of age. A report based on the Framingham data. *Archives of internal medicine*. 1993 May 10;153:1065-73.

40. Manolio TA, Pearson TA, Wenger NK, Barrett-Connor E, Payne GH, Harlan WR. Cholesterol and heart disease in older persons and women. Review of an NHLBI workshop. *Annals of epidemiology*. 1992 Jan-Mar;2:161-76.

41. Psaty BM, Anderson M, Kronmal RA, Tracy RP, Orchard T, Fried LP, Lumley T, Robbins J, Burke G, Newman AB, Furberg CD. The association between lipid levels and the risks of incident myocardial infarction, stroke, and total mortality: The Cardiovascular Health Study. *J Am Geriatr Soc*. 2004 Oct;52:1639-47.

42. Clarke R, Emberson JR, Parish S, Palmer A, Shipley M, Linksted P, Sherliker P, Clark S, Armitage J, Fletcher A, Collins R. Cholesterol fractions and apolipoproteins as risk factors for heart disease mortality in older men. *Arch Intern Med*. 2007 Jul 9;167:1373-8.

43. Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB, Bollen EL, Buckley BM, Cobbe SM, Ford I, Gaw A, Hyland M, Jukema JW, Kamper AM, Macfarlane PW, Meinders AE, Norrie J, Packard CJ, Perry IJ, Stott DJ, Sweeney BJ, Twomey C, Westendorp RG. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002 Nov 23;360:1623-30.
44. Cesari M, Penninx BW, Newman AB, Kritchevsky SB, Nicklas BJ, Sutton-Tyrrell K, Rubin SM, Ding J, Simonsick EM, Harris TB, Pahor M. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation*. 2003 Nov 11;108:2317-22.
45. Cushman M, Arnold AM, Psaty BM, Manolio TA, Kuller LH, Burke GL, Polak JF, Tracy RP. C-reactive protein and the 10-year incidence of coronary heart disease in older men and women: the cardiovascular health study. *Circulation*. 2005 Jul 5;112:25-31.
46. Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, Siscovick DS, Mouton CP, Rifai N, Wallace RB, Jackson RD, Pettinger MB, Ridker PM. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. *Jama*. 2002 Aug 28;288:980-7.
47. Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM, Ives DG, Evans RW, Cushman M, Meilahn EN, Kuller LH. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly. Results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 1997 Jun;17:1121-7.
48. Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. Relative value of inflammatory, hemostatic, and rheological factors for incident myocardial infarction and stroke: the Edinburgh Artery Study. *Circulation*. 2007 Apr 24;115:2119-27.
49. van der Meer IM, de Maat MP, Kiliaan AJ, van der Kuip DA, Hofman A, Witteman JC. The value of C-reactive protein in cardiovascular risk prediction: the Rotterdam Study. *Archives of internal medicine*. 2003 Jun 9;163:1323-8.
50. Kuller LH, Shemanski L, Psaty BM, Borhani NO, Gardin J, Haan MN, O'Leary DH, Savage PJ, Tell GS, Tracy R. Subclinical disease as an independent risk factor for cardiovascular disease. *Circulation*. 1995 Aug 15;92:720-6.
51. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002 Dec 17;106:3143-421.
52. Zakai NA, Katz R, Jenny NS, Psaty BM, Reiner AP, Schwartz SM, Cushman M. Inflammation and hemostasis biomarkers and cardiovascular risk in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *J Thromb Haemost*. 2007 Jun;5:1128-35.

53. de Ruijter W, Westendorp RG, Assendelft WJ, den Elzen WP, de Craen AJ, le Cessie S, Gussekloo J. Use of Framingham risk score and new biomarkers to predict cardiovascular mortality in older people: population based observational cohort study. *BMJ*. 2009;338:a3083.
54. Ingelsson E, Schaefer EJ, Contois JH, McNamara JR, Sullivan L, Keyes MJ, Pencina MJ, Schoonmaker C, Wilson PW, D'Agostino RB, Vasan RS. Clinical utility of different lipid measures for prediction of coronary heart disease in men and women. *Jama*. 2007 Aug 15;298:776-85.
55. Cook NR. Use and misuse of the receiver operating characteristic curve in risk prediction. *Circulation*. 2007 Feb 20;115:928-35.
56. Pencina MJ, D'Agostino RB, Sr., D'Agostino RB, Jr., Vasan RS. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. *Stat Med*. 2008 Jan 30;27:157-72; discussion 207-12.
57. Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology*. 2003 Nov-Dec;22:316-25.
58. Dufouil C, Richard F, Fievet N, Dartigues JF, Ritchie K, Tzourio C, Amouyel P, Alperovitch A. APOE genotype, cholesterol level, lipid-lowering treatment, and dementia: the Three-City Study. *Neurology*. 2005 May 10;64:1531-8.
59. Empana JP, Zureik M, Gariepy J, Courbon D, Dartigues JF, Ritchie K, Tzourio C, Alperovitch A, Ducimetière P. The metabolic syndrome and the carotid artery structure in noninstitutionalized elderly subjects: the three-city study. *Stroke*. 2007 Mar;38:893-9.
60. Alperovitch A DJ, Ritchie K, Tsourio C, Mazoyer B, Amouyel P, Ducimetière P et le groupe 3C. L'étude des Trois cités : relation entre pathologie vasculaire et démence. *Rev Med Ass Maladie*. 2006;37:117-24.
61. Prentice R. A case-cohort design for epidemiologic cohort studies and disease prevention trials. *Biometrika*. 1986;73:1-11.
62. Barlow WE, Ichikawa L, Rosner D, Izumi S. Analysis of case-cohort designs. *J Clin Epidemiol*. 1999 Dec;52:1165-72.
63. Thiebaut AC, Benichou J. Choice of time-scale in Cox's model analysis of epidemiologic cohort data: a simulation study. *Stat Med*. 2004 Dec 30;23:3803-20.
64. Harrell FE, Jr., Lee KL, Mark DB. Multivariable prognostic models: issues in developing models, evaluating assumptions and adequacy, and measuring and reducing errors. *Stat Med*. 1996 Feb 28;15:361-87.

65. Marti H, Chavance M. Multiple imputation analysis of case-cohort studies. *Stat Med*. 2011 Jun 15;30:1595-607.
66. Alperovitch A AP, Dartigues JF, Ducimetière P, Mazoyer B, Ritchie K, Tsourio C. Les études épidémiologiques sur le vieillissement en France : de l'étude PAQUID à l'étude des Trois Cités. *CR Biologies* 2002;325:665-72.
67. Clauss A. [Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen]. *Acta Haematol*. 1957 Apr;17:237-46.
68. Kulathinal S, Karvanen J, Saarela O, Kuulasmaa K. Case-cohort design in practice - experiences from the MORGAM Project. *Epidemiol Perspect Innov*. 2007;4:15.
69. Cao JJ, Arnold AM, Manolio TA, Polak JF, Psaty BM, Hirsch CH, Kuller LH, Cushman M. Association of carotid artery intima-media thickness, plaques, and C-reactive protein with future cardiovascular disease and all-cause mortality: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2007 Jul 3;116:32-8.
70. Ridker PM. Testing the inflammatory hypothesis of atherothrombosis: scientific rationale for the cardiovascular inflammation reduction trial (CIRT). *J Thromb Haemost*. 2009 Jul;7 Suppl 1:332-9.
71. Rodondi N, Marques-Vidal P, Butler J, Sutton-Tyrrell K, Cornuz J, Satterfield S, Harris T, Bauer DC, Ferrucci L, Vittinghoff E, Newman AB. Markers of atherosclerosis and inflammation for prediction of coronary heart disease in older adults. *Am J Epidemiol*. 2010 Mar 1;171:540-9.
72. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, Macfadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ. Rosuvastatin to Prevent Vascular Events in Men and Women with Elevated C-Reactive Protein. *The New England journal of medicine*. 2008 Nov 9;359:2195-207.
73. Spatz ES, Canavan ME, Desai MM. From here to JUPITER: identifying new patients for statin therapy using data from the 1999-2004 National Health and Nutrition Examination Survey. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2009 Jan;2:41-8.
74. Ridker PM. Statin therapy for elevated hsCRP: what are the public health implications? *Am J Manag Care*. 2010 Aug;16:561-2.
75. Dehghan A, Dupuis J, Barbalic M, Bis JC, Eiriksdottir G, Lu C, Pellikka N, Wallaschofski H, Kettunen J, Henneman P, Baumert J, Strachan DP, Fuchsberger C, Vitart V, Wilson JF, Pare G, Naitza S, Rudock ME, Surakka I, de Geus EJ, Alizadeh BZ, Guralnik J, Shuldiner A, Tanaka T, Zee RY, Schnabel RB, Nambi V, Kavousi M, Ripatti S, Nauck M, Smith NL, Smith AV, Sundvall J, Scheet P, Liu Y, Ruukonen A, Rose LM, Larson MG, Hoogeveen RC, Freimer NB, Teumer A, Tracy RP, Launer LJ, Buring JE, Yamamoto JF, Folsom AR, Sijbrands EJ, Pankow J, Elliott P, Keaney JF, Sun W, Sarin AP, Fontes JD,

Badola S, Astor BC, Hofman A, Pouta A, Werdan K, Greiser KH, Kuss O, Meyer zu Schwabedissen HE, Thiery J, Jamshidi Y, Nolte IM, Soranzo N, Spector TD, Volzke H, Parker AN, Aspelund T, Bates D, Young L, Tsui K, Siscovick DS, Guo X, Rotter JI, Uda M, Schlessinger D, Rudan I, Hicks AA, Penninx BW, Thorand B, Gieger C, Coresh J, Willemssen G, Harris TB, Uitterlinden AG, Jarvelin MR, Rice K, Radke D, Salomaa V, Willems van Dijk K, Boerwinkle E, Vasani RS, Ferrucci L, Gibson QD, Bandinelli S, Snieder H, Boomsma DI, Xiao X, Campbell H, Hayward C, Pramstaller PP, van Duijn CM, Peltonen L, Psaty BM, Gudnason V, Ridker PM, Homuth G, Koenig W, Ballantyne CM, Witteman JC, Benjamin EJ, Perola M, Chasman DI. Meta-analysis of genome-wide association studies in >80 000 subjects identifies multiple loci for C-reactive protein levels. *Circulation*. 2011 Feb 22;123:731-8.

76. Collaborative pooled analysis of data on C-reactive protein gene variants and coronary disease: judging causality by Mendelian randomisation. *European journal of epidemiology*. 2008;23:531-40.

77. Kivimaki M, Lawlor DA, Smith GD, Kumari M, Donald A, Britton A, Casas JP, Shah T, Brunner E, Timpson NJ, Halcov JP, Miller MA, Humphries SE, Deanfield J, Marmot MG, Hingorani AD. Does high C-reactive protein concentration increase atherosclerosis? The Whitehall II Study. *PLoS ONE*. 2008;3:e3013.

78. Lange LA, Carlson CS, Hindorf LA, Lange EM, Walston J, Durda JP, Cushman M, Bis JC, Zeng D, Lin D, Kuller LH, Nickerson DA, Psaty BM, Tracy RP, Reiner AP. Association of polymorphisms in the CRP gene with circulating C-reactive protein levels and cardiovascular events. *Jama*. 2006 Dec 13;296:2703-11.

79. Carlsson CM, Nondahl DM, Klein BE, McBride PE, Sager MA, Schubert CR, Klein R, Cruickshanks KJ. Increased atherogenic lipoproteins are associated with cognitive impairment: effects of statins and subclinical atherosclerosis. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2009 Jan-Mar;23:11-7.

80. Arnaud J, Akbaraly TN, Hininger-Favier I, Berr C, Roussel AM. Fibrates but not statins increase plasma selenium in dyslipidemic aged patients--the EVA study. *J Trace Elem Med Biol*. 2009;23:21-8.

81. Ridker PM, Genest J, Boekholdt SM, Libby P, Gotto AM, Nordestgaard BG, Mora S, MacFadyen JG, Glynn RJ, Kastelein JJ. HDL cholesterol and residual risk of first cardiovascular events after treatment with potent statin therapy: an analysis from the JUPITER trial. *Lancet*. 2010 Jul 31;376:333-9.

82. Clearfield M, Downs JR, Weis S, Whitney EJ, Krayer W, Shapiro DR, Stein EA, Langendorfer A, Beere PA, Gotto AM. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS): efficacy and tolerability of long-term treatment with lovastatin in women. *J Womens Health Gend Based Med*. 2001 Dec;10:971-81.

83. Jackevicius CA, Mamdani M, Tu JV. Adherence with statin therapy in elderly patients with and without acute coronary syndromes. *JAMA*. 2002 Jul 24-31;288:462-7.

84. Voora D, Shah SH, Spasojevic I, Ali S, Reed CR, Salisbury BA, Ginsburg GS. The SLCO1B1*5 genetic variant is associated with statin-induced side effects. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009 Oct 20;54:1609-16.
85. Gotto AM, Jr., Whitney E, Stein EA, Shapiro DR, Clearfield M, Weis S, Jou JY, Langendorfer A, Beere PA, Watson DJ, Downs JR, de Cani JS. Relation between baseline and on-treatment lipid parameters and first acute major coronary events in the Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS). *Circulation*. 2000 Feb 8;101:477-84.
86. Simes RJ, Marschner IC, Hunt D, Colquhoun D, Sullivan D, Stewart RA, Hague W, Keech A, Thompson P, White H, Shaw J, Tonkin A. Relationship between lipid levels and clinical outcomes in the Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) Trial: to what extent is the reduction in coronary events with pravastatin explained by on-study lipid levels? *Circulation*. 2002 Mar 12;105:1162-9.
87. Kastelein JJ, van der Steeg WA, Holme I, Gaffney M, Cater NB, Barter P, Deedwania P, Olsson AG, Boekholdt SM, Demicco DA, Szarek M, LaRosa JC, Pedersen TR, Grundy SM. Lipids, apolipoproteins, and their ratios in relation to cardiovascular events with statin treatment. *Circulation*. 2008 Jun 10;117:3002-9.
88. Packard CJ, Ford I, Robertson M, Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB, Bollen EL, Buckley BM, Cobbe SM, Gaw A, Hyland M, Jukema JW, Kamper AM, Macfarlane PW, Perry IJ, Stott DJ, Sweeney BJ, Twomey C, Westendorp RG. Plasma lipoproteins and apolipoproteins as predictors of cardiovascular risk and treatment benefit in the PROspective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk (PROSPER). *Circulation*. 2005 Nov 15;112:3058-65.
89. Deedwania P, Stone PH, Bairey Merz CN, Cosin-Aguilar J, Koylan N, Luo D, Ouyang P, Piotrowicz R, Schenck-Gustafsson K, Sellier P, Stein JH, Thompson PL, Tzivoni D. Effects of intensive versus moderate lipid-lowering therapy on myocardial ischemia in older patients with coronary heart disease: results of the Study Assessing Goals in the Elderly (SAGE). *Circulation*. 2007 Feb 13;115:700-7.
90. Glynn RJ, Koenig W, Nordestgaard BG, Shepherd J, Ridker PM. Rosuvastatin for primary prevention in older persons with elevated C-reactive protein and low to average low-density lipoprotein cholesterol levels: exploratory analysis of a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2010 Apr 20;152:488-96, W174.
91. Gotto AM, Jr. Statin therapy and the elderly: SAGE advice? *Circulation*. 2007 Feb 13;115:681-3.
92. Chambless LE, Folsom AR, Sharrett AR, Sorlie P, Couper D, Szklo M, Nieto FJ. Coronary heart disease risk prediction in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *J Clin Epidemiol*. 2003 Sep;56:880-90.

93. Zethelius B, Berglund L, Sundstrom J, Ingelsson E, Basu S, Larsson A, Venge P, Arnlov J. Use of multiple biomarkers to improve the prediction of death from cardiovascular causes. *The New England journal of medicine*. 2008 May 15;358:2107-16.
94. Blankenberg S, Zeller T, Saarela O, Havulinna AS, Kee F, Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Yarnell J, Schnabel RB, Wild PS, Munzel TF, Lackner KJ, Tiret L, Evans A, Salomaa V. Contribution of 30 biomarkers to 10-year cardiovascular risk estimation in 2 population cohorts: the MONICA, risk, genetics, archiving, and monograph (MORGAM) biomarker project. *Circulation*. 2010 Jun 8;121:2388-97.

VIII. ANNEXES

Higher Level of Systemic C-Reactive Protein Is Independently Predictive of Coronary Heart Disease in Older Community-Dwelling Adults: The Three-City Study

Celine Straczek, PharmD, MPH,^{*†} Pierre Ducimetiere, PhD,[‡] Pascale Barberger-Gateau, MD, PhD,[§] Catherine Helmer, MD, PhD,[§] Karen Ritchie, PhD,^{||} Xavier Jouven, MD, PhD,^{*†} Laure Carcaillon, MPH,[#] Philippe Amouyel, MD, PhD,^{**} Christophe Tzourio, MD, PhD,^{††} and Jean-Philippe Empana, MD, PhD^{*†}

OBJECTIVES: To assess the association between systemic C-reactive protein (CRP) and incident coronary heart disease (CHD) in community-dwelling elderly people.

DESIGN: A French population-based multicenter prospective cohort study.

SETTING: Three cities in France: Bordeaux in the southwest, Dijon in the northeast, and Montpellier in the southeast.

PARTICIPANTS: After 4 years of follow-up, a case-cohort study was designed including 1,004 subjects randomly selected from the initial cohort of 9,294 subjects free of CHD at baseline and 174 subjects who developed first CHD events during follow-up.

MEASUREMENTS: Hazard ratios (HRs) were estimated using a Cox proportional hazard model adapted for the case-cohort design using a CRP level less than 1 mg/L as the reference category.

RESULTS: Of the random sample, 24.3% had a CRP level less than 1.0 mg/L, 45.8% had a CRP level of 1.0 to 2.9 mg/L, and 29.9% had a CRP level of 3.0 to 10.0 mg/L. The HRs for CHD, adjusted for age, sex, and study center, were 1.69 (95% confidence interval (CI) = 1.04–2.75) for CRP from 1.0 to 2.9 mg/L and 2.32 (95% CI = 1.41–3.82) for CRP from 3.0 to 10.0 mg/L (*P* for trend < .001). After additional adjustment for smoking, body mass index, diabetes mellitus, systolic blood pressure, high-density lipoprotein cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, statin use, and antihypertensive treatment, a baseline CRP of 3.0 to 10.0 mg/L remained associated with risk of CHD (HR = 1.87, 95% CI = 1.09–3.25), although CRP did not improve the discriminative ability of a predicting model

based on traditional risk factors (receiver operating characteristic curves from 0.740 to 0.749).

CONCLUSION: CRP is an independent CHD risk marker but does not improve CHD risk prediction in community-dwelling elderly people. *J Am Geriatr Soc* 58:129–135, 2010.

Key words: epidemiology; elderly; coronary heart disease; atherosclerosis; inflammation

Extensive evidence indicates that inflammation is an important pathogenetic mechanism in the development and progression of atherosclerosis.^{1,2} Moreover, active inflammatory processes may trigger plaque rupture and clinical atherothrombotic cardiovascular disease (CVD) events.³ C-reactive protein (CRP) is an acute-phase reactant circulating marker of inflammation and is easily measurable in the blood. The results of several large prospective cohorts of apparently healthy middle-aged individuals and of one recent meta-analysis indicated that higher CRP is independently predictive of coronary heart disease (CHD).^{4–7} Accordingly, it has been suggested that CRP be measured in addition to established risk factors to assess the risk of CHD.⁸

However, despite the marked increase in CHD incidence with age, few studies have examined the association between CRP and CHD in elderly people and have reported contrasted results.^{9–14} Most previous studies were conducted in countries with high CHD incidence and considered a narrow age range (<80). Moreover, the magnitude of the association between CRP and CHD in elderly people may be lower than that observed in middle-aged people, a phenomenon described already for some traditional risk factors.^{15,16} In addition, the high prevalence of comorbid-

From the ^{*}INSERM U970, Paris Cardiovascular Research Center, Paris, France; [†]Paris V University, Paris, France; [‡]IFR69-Paris Sud University, Villejuif, France; [§]INSERM U897, Bordeaux, France; ^{||}INSERM U888, Montpellier 1 University, Montpellier, France; [#]INSERM U780, Villejuif, France; ^{**}INSERM U744, Lille, France; and ^{††}INSERM U708, Paris, France. Address correspondence to Céline Straczek, 16 avenue Paul Vaillant Couturier, F-94807 Villejuif Cedex, France. E-mail: Celine.straczek@inserm.fr
DOI: 10.1111/j.1532-5415.2009.02625.x

ities, pharmacological treatment, and subclinical atherosclerosis burden in elderly people may confound the associations between CRP and CHD in this population.¹⁷

The aim of the present study was therefore to assess whether systemic CRP was predictive of incident CHD events in noninstitutionalized older adult participants from the Three-City Study who were free of CVD.

METHODS

Study Population

The Three-City Study is a French multicenter prospective cohort study investigating the determinants of CHD, stroke, and dementia in older community-dwelling participants. The study protocol has been described previously.¹⁸ Briefly, men and women aged 65 and older were selected from the electoral rolls of three cities and invited to participate in the study. Overall, 9,294 men and women aged 65 and older were selected from the electoral rolls of Bordeaux in the southwest ($n = 2,104$), Dijon in the northeast ($n = 4,931$), and Montpellier in the southeast ($n = 2,259$) between March 1999 and March 2001. The Ethics Committee of the University Hospital of Kremlin-Bicêtre approved the study protocol, and each participant signed an informed consent.

Baseline Data

A face-to-face questionnaire on health was administered to collect sociodemographic characteristics, information relating to health behaviors such as alcohol and tobacco use, previous medical history, and medications regularly used in the previous month. At enrollment, subjects underwent a standardized physical examination including blood pressure, height, and weight measurements.¹⁸ Hypertension was defined as blood pressure of 140/90 mmHg or higher measured on two occasions after 5 minutes rest or the use of antihypertensive medication at baseline. An ultrasound examination of the carotid arteries was offered to 6,631 participants younger than 85. The protocol of carotid ultrasound examination has been described in detail previously.¹⁹ Briefly, the same B-mode system (Ultramark 9 High Definition Imaging) with a 5- to 10-Mhz sounding was used in each center, and one trained reader performed a centralized reading at the Reference Reading Center (Hospital Broussais, Paris) according to a standardized protocol. The examinations involved scanning of the common carotid arteries (CCAs), the carotid bifurcations, and the origin of the internal carotid arteries. The near and far walls of these arterial segments were scanned longitudinally and transversally to assess the presence of plaques, which was defined as previously reported.²⁰ For intima media thickness (IMT), the far and near walls of the right and left common carotid arteries 2 to 3 cm proximal to the bifurcation were imaged and frozen in end-diastole. IMT was measured at sites free of any discrete plaques along a 10-mm-long segment of the far wall of the common carotid arteries and defined as the distance between the lumen-intima interface and the media-adventitia interface. The mean of 75 measurements was automatically performed on each image and on each side.

Blood was collected at baseline after an overnight fast. Measurements of biological parameters were centralized in

a single laboratory using standard methods and included total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG), and glycemia. Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was estimated using the Friedewald formula for TG of 4.5 g/L or less. Thereafter, blood samples were frozen using a standardized protocol.

Follow-Up and Event Ascertainment

Participants were reexamined at the study center or at home 2 and 4 years after the baseline examination. During these intermediate examinations, subjects were interviewed about the occurrence of hospitalizations for a CHD event in the intervening 2 years. Those who could not be reexamined ($n = 722$ at 2 years and $n = 752$ at 4 years) answered a postal questionnaire. For all subjects reporting a possible event, trained physicians obtained hospital charts or practitioner's correspondence and recorded presenting symptoms and date of events. CHD events included stable and unstable angina pectoris, coronary balloon dilatation or artery bypass, myocardial infarction, and CHD death (International Classification of Diseases, Tenth Revision codes I210–I219, I251–259, I461, and R960). Overall, CHD status was known for 96% of the initial cohort. Subjects with missing data on CHD status ($n = 414$) were older ($P < .001$), more likely to be male ($P = .03$) and had diabetes mellitus ($P = .005$), and had lower HDL-C ($P = .02$) and higher TG ($P = .02$).

A case-cohort study was conducted at the end of 4 years of follow-up for the investigation of nonstandard risk markers. For the present work, the case-cohort study comprised a subcohort of 1,086 subjects free of history of CHD at baseline, randomly selected from the initial cohort in strata defined according to center, age (5 years), and sex, and 199 subjects who developed first CHD events during follow-up. High-sensitivity CRP (hs-CRP) was centrally measured blinded to CHD status using a particle-enhanced turbidimetric immunoassay on thawed baseline plasma of subjects from the case-cohort study. The sensitivity and interassay coefficient variation of this assay were 0.15 mg/L and 2.6%, respectively. Fibrinogen was measured according to a method previously developed.²¹

Statistical Analysis

The 98 subjects, including 25 cases with CHD, who had a baseline CRP greater than 10 mg/L were excluded, because this value might reflect an acute inflammatory or infectious condition; three additional subjects from the subcohort with missing CRP measurement were also excluded from the study population. CRP level was categorized as low (< 1.0 mg/L), intermediate (1.0–2.9 mg/L), and moderately high (3.0–10 mg/L).⁸ The baseline characteristics of the subcohort were compared across the CRP categories defined above using logistic and general linear regression adjusted for age, sex, and study center for categorical and continuous variables, respectively. Hazard ratios (HRs) and 95% confidence intervals (95% CIs) were estimated using Cox proportional hazard models adapted for a case-cohort design, taking hs-CRP less than 1.0 mg/L as the reference category.²² HRs were also given for a 1-standard deviation (SD) increment of the natural log-transformed CRP calculated in the subcohort. HRs were first adjusted for age, sex,

Table 1. Baseline Characteristics of 1,004 Subjects Randomly Selected from the Initial Cohort According to Systemic Level of High-Sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP): The Three-City Study

Characteristic	hs-CRP, mg/L			P-Value*
	<1.0 (n = 244)	1.0–2.9 (n = 460)	3.0–10 (n = 300)	
Age, mean \pm SD	72.9 \pm 5.2	73.8 \pm 5.2	73.7 \pm 5.3	.12
Male, n (%)	87 (35.7)	181 (39.4)	111 (37.0)	.61
≥ 12 years schooling, n (%)	82 (33.6)	142 (31.0)	78 (26.0)	.02
Living alone, n (%)	88 (36.4)	159 (34.6)	100 (33.6)	.18
Monthly income <1,500 euro, n (%)	75 (32.5)	145 (33.2)	113 (39.8)	.08
Current or former smoker, n (%)	84 (34.4)	178 (38.7)	115 (38.3)	.44
Diabetes mellitus or impaired fasting glucose, n (%)	20 (8.2)	53 (11.6)	45 (15.0)	.048
Body mass index, kg/m ² , mean \pm SD	23.3 \pm 3.1	25.9 \pm 3.6	26.8 \pm 4.1	<.001
Systolic blood pressure, mmHg, mean \pm SD	143.2 \pm 22.2	147.2 \pm 21.0	148.5 \pm 21.3	.03
High-density lipoprotein cholesterol, mmol/L, mean \pm SD	1.77 \pm 0.43	1.63 \pm 0.38	1.53 \pm 0.38	<.001
Low-density lipoprotein cholesterol, mmol/L, mean \pm SD	3.68 \pm 0.76	3.68 \pm 0.86	3.69 \pm 0.84	.98
Triglycerides, mmol/L, mean \pm SD	1.07 \pm 0.47	1.21 \pm 0.59	1.36 \pm 0.67	<.001
Statin therapy, n (%)	25 (10.3)	65 (14.1)	28 (9.3)	.52
Current hormone replacement therapy, n (%) [†]	31 (20.4)	41 (15.3)	26 (14.4)	.07
Aspirin use, n (%)	22 (9.0)	44 (9.6)	38 (12.7)	.74
Antihypertensive treatment, n (%)	88 (36.1)	208 (45.2)	154 (51.3)	.002
Carotid plaques, n (%) [‡]	69 (34.9)	141 (40.5)	93 (44.3)	.19
Intima media thickness, mm, mean \pm SD [‡]	0.693 \pm 0.108	0.721 \pm 0.123	0.705 \pm 0.121	.19

* Logistic regression and general linear model adjusted for age, sex, and study center for categorical and continuous variables, respectively.

[†] Analysis in women only.

[‡] Ultrasound examination of the carotid arteries was performed in 894 subjects <85 y at baseline.

SD = standard deviation.

and study center and then simultaneously adjusted for known confounding factors such as smoking status, body mass index (BMI), diabetes mellitus, systolic blood pressure, antihypertensive treatment, HDL-C, LDL-C, TG (log-transformed), and statin use. Associations between CRP and CHD was also examined in prespecified subgroups defined according to sex, smoking status, BMI (cutoff 25 kg/m²), diabetes mellitus or impaired fasting glucose, statin or aspirin use, antihypertensive medications, the presence of carotid plaques, and the median value of continuous variables calculated in cases, such as age (cutoff 74), LDL-C (cutoff 3.60 mmol/L), and IMT (cutoff 0.720 mm). In each subgroup, the HR of CHD associated with a 1-SD increment of CRP was estimated after adjustment for age, sex, and study center. Product interaction terms between CRP (log-transformed) and each of these covariates were entered in separate Cox models adjusted for age, study center, and sex. All analyses were two-sided, and $P < .05$ indicated statistical significance. Analyses were performed using SAS 9.0 release (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

RESULTS

Baseline Characteristics

The study population comprised 1,004 subjects from the subcohort who had no history of CHD at baseline and 174 subjects (27 in the subcohort) who developed incident CHD events during 4 years of follow-up. In the subcohort, there were 379 men (37.8%), and the mean age \pm SD was 73.6 \pm 5.2. The median (interquartile range) of CRP was 1.86 mg/L (1.01–3.53 mg/L); 24.3% had CRP less than

1.0 mg/L, 45.8% from 1.0 to 2.9 mg/L, and 29.9% from 3.0 to 10.0 mg/L. The baseline characteristics of the subcohort according to CRP category are shown in Table 1. CRP level was significantly and positively associated with BMI, TG, systolic blood pressure, antihypertensive medications, and fasting glycemia, and inversely associated with education, income ($P = .08$), hormone replacement therapy in women ($P = .07$), and HDL-C.

Follow-Up Data

As shown in Table 2, the HRs of CHD increased gradually across CRP categories. Compared with CRP less than 1.0 mg/L and after adjustment for age, sex, and study center, the HRs of CHD were 1.69 (95% confidence interval (CI) = 1.01–2.75) for CRP from 1.0 to 2.9 mg/L and 2.32 (95% CI = 1.41–3.82) for CRP from 3.0 to 10.0 mg/L (P for trend <.001). The HR for a 1-SD increment of the natural log-transformed CRP was 1.31 (95% CI = 1.11–1.55). Additional adjustment for confounding factors (Model 2) attenuated the magnitude of the associations, but subjects with a CRP from 3.0 to 10.0 mg/L had significantly greater risk of CHD than those with CRP less than 1.0 mg/L (HR = 1.87, 95% CI = 1.08–3.25). In the latter model, the HR for a 1-SD increment of the natural log-transformed CRP was 1.21 (95% CI = 0.99–1.47, $P = .06$). Of the 894 subjects younger than 85 years at baseline in whom ultrasound examination of the carotid artery was performed, a baseline CRP from 3.0 to 10.0 mg/L remained associated with a greater CHD risk after additional adjustment for the presence of carotid plaques (Model 2a,

Table 2. Association Between Baseline C-Reactive Protein (CRP) and First Coronary Heart Disease (CHD) Event over 4 Years of Follow-Up: The Three-City Study

CRP Level (mg/L)	Subjects Randomly Selected from the Initial Cohort, n	CHD Events, n	HR (95% Confidence Interval)			
			Model 1	Model 2	Model 2a	Model 2b
<1.0	244	25	1.0	1.0	1.0	1.0
1.0–2.9	460	81	1.69 (1.04–2.75)	1.46 (0.87–2.47)	1.34 (0.76–2.36)	1.35 (0.76–2.39)
3.0–10.0	300	68	2.32 (1.41–3.82)	1.87 (1.09–3.25)	1.90 (1.04–3.48)	2.04 (1.11–3.75)
<i>P</i> for trend			<.001	.03	.03	.02
Carotid plaques*			—	—	1.66 (1.06–2.60)	—
IMT*†			—	—	—	0.99 (0.79–1.24)

Model 1 was adjusted for age, sex, and study center.

Model 2 was additionally adjusted for current smoking status, body mass index, diabetes mellitus, hypertension, high-density lipoprotein cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, triglycerides (log-transformed), and statin therapy.

Model 2a was additionally adjusted for carotid plaques and model 2b for intima media thickness (IMT).

*Model 2a and 2b were restricted to the 894 subjects younger than 85 and who had carotid ultrasound examination at baseline.

†Hazard ratio (HR) was expressed for a 1-standard deviation increase (0.119 mm) in IMT calculated in the subcohort.

HR = 1.90, 95% CI = 1.04–3.48) or for IMT (Model 2b, HR = 2.04, 95% CI = 1.11–3.75). In these models, the presence of carotid plaques (Model 2a, HR = 1.66, 95% CI = 1.06–2.60) but not greater IMT (Model 2b, HR = 0.99, 95% CI = 0.99–1.34) was predictive of CHD risk.

However, the addition of CRP in a multivariable model predicting CHD events and including established risk factors had no effect on the discriminative ability of that model, as shown by a change in the *c* statistic from 0.740 to 0.749.

As shown in Table 3, there was no significant interaction between CRP, CHD risk and most risk factors, and the carotid parameters. Association tended to be stronger in women than in men. Results according to statin therapy use should be interpreted with caution given the small number of CHD events in those who were receiving statin therapy at baseline and given the number of subgroup analysis.

Additional Analyses

CRP was associated with nonfatal CHD events ($n = 119$; HR for 1-SD increment of the natural log-transformed CRP = 1.35, 95% CI = 1.13–1.62) but not with fatal CHD events ($n = 28$; HR = 1.11, 95% CI = 0.70–1.76) in analysis adjusted for age, study center, and sex. The association between CRP and nonfatal CHD remained significant after further adjustment for traditional risk factors. In women who were not current hormone replacement therapy users at baseline (83.5% of women from the subcohort), CRP remained predictive of CHD after adjustment for age and study center ($n = 49$ CHD events; HR for 1-SD increment of the natural log-transformed CRP = 1.67, 95% CI = 1.19–2.35). No reliable analyses could be performed in current users because only four CHD events occurred during follow-up in that subgroup. Furthermore, CRP was not correlated with baseline renal function as evaluated according to the Modified Diet in Renal Disease estimated glomerular filtration rate (correlation coefficient in the subcohort = -0.03 , $P = .27$), and additional adjustment for renal function did not modify the association between CRP

and CHD events. The interplay between CRP, fibrinogen, and CHD risk was examined. Fibrinogen was correlated to CRP in the subcohort (correlation coefficient = 0.37, $P < .001$), but CRP remained associated with CHD risk after adjustment for traditional risk factors and fibrinogen (HR for CRP 3.0–10.0 mg/L = 1.81, 95% CI = 1.01–3.23).

DISCUSSION

In this observational population-based study of community-dwelling elderly people, higher level of CRP was predictive of CHD events over 4 years. In particular, subjects with baseline CRP from 3.0 to 10 mg/L, who represented nearly one-third of the subcohort, had twice the risk of CHD as those with baseline CRP less than 1.0 mg/L after adjustment for major risk factors and carotid atherosclerosis burden.

Although several observational studies, including meta-analyses in middle-aged populations, have found an association between higher CRP and CHD,^{4–7} relatively few studies, which have yielded inconsistent results,^{9–14} have investigated this association in elderly community-dwelling people. Negative results were reported in the Health, Aging and Body Composition Study, which included individuals aged 70 to 79 followed for 4 years;⁹ in the Cardiovascular Health Study (CHS), which included subjects aged 65 and older followed for 3 years;¹⁰ and in the Rotterdam Study, which included participants aged 55 and older followed for 5 to 8 years.¹¹ Conversely, an independent association between CRP and incident CHD was reported in three studies. In the Edinburgh Artery Study, which included subjects aged 55 to 74 followed for 17 years, those with CRP in the top tertile (>2.88 mg/L) had a 62% greater risk of myocardial infarction than those in the bottom tertile (<1.11 mg/L).¹² In a nested case-control study conducted within the Women's Health Initiative and including women aged 50 to 79, CRP greater than 4.7 mg/L was associated with twice the risk of CHD after multivariable adjustment.¹³ Finally, reanalysis of the CHS after 10 years of follow-up yielded significant association between

Table 3. Association Between Baseline C-Reactive Protein (CRP) and First Coronary Heart Disease (CHD) Event over 4 Years of Follow-Up According to Risk Factor Category: The Three-City Study

Risk Factor	Subjects Randomly Selected from the Initial Cohort, n	CHD Events, n	HR* (95% Confidence Interval)	P for Interaction
Age				.32
< 75	551	80	1.47 (1.16–1.87)	
≥ 75	453	94	1.19 (0.93–1.51)	
Sex				.19
Male	379	110	1.19 (0.96–1.46)	
Female	625	64	1.52 (1.10–2.10)	
Smoker				.38
Never	627	98	1.45 (1.12–1.87)	
Current or former	377	76	1.24 (0.96–1.60)	
Body mass index, kg/m ²				.67
< 25.0	480	68	1.43 (1.07–1.92)	
≥ 25.0	517	104	1.26 (0.97–1.63)	
Diabetes mellitus				.20
No	885	126	1.37 (1.11–1.68)	
Yes or impaired fasting glucose	118	47	1.11 (0.77–1.61)	
Low-density lipoprotein cholesterol, mmol/L				.63
< 3.60	480	80	1.25 (0.95–1.64)	
≥ 3.60	520	94	1.35 (1.08–1.70)	
Statin therapy				.03
No	886	148	1.21 (1.01–1.44)	
Yes	118	26	2.09 (1.12–3.91)	
Aspirin				.50
No	900	155	1.34 (1.11–1.63)	
Yes	104	19	1.14 (0.62–2.10)	
Antihypertensive treatment				.42
No	554	80	1.41 (1.09–1.82)	
Yes	450	94	1.24 (0.97–1.58)	
Carotid plaques*				.46
No	453	54	1.41 (1.04–1.92)	
Yes	303	82	1.21 (0.93–1.56)	
Intima media thickness				.15
< 50% (0.695 mm)*	427	66	1.57 (1.18–2.10)	
≥ 50% (0.695 mm)*	315	66	1.18 (0.88–1.57)	

In each subgroup, the hazard ratios (HRs) for coronary heart disease were calculated for a 1-standard deviation increase in naturally log-transformed CRP calculated in the subjects randomly selected from the initial cohort and were estimated using Cox proportional hazard models adjusted for age, sex, and study center.

* Analysis performed in the 894 subjects younger than 85 and who had carotid ultrasound examination at baseline.

CRP and CHD, with an observed 45% greater risk of CHD in those with hs-CRP from 3.0 to 10.0 mg/L.¹⁴

This is the second study after the CHS to explore the relationship between CRP and CHD in community-dwelling elderly people covering a wide age range (65–98) and in both sexes. In addition, the study took place in a European country with a low incidence of CHD. The association between CRP and CHD remained similar with advancing age, contrary to what has been reported for most traditional risk factors.^{15,16} The magnitude of the association between CRP and CHD risk tended to be stronger in women than in men, although the mean level of most risk factors, including age, cholesterol, BMI, IMT, diabetes mellitus, and plaque, was significantly lower (higher for HDL-C) in women than in

men. In the CHS, a similar stronger association between CRP and CHD was found in women (with subclinical disease) after 3 years of follow-up, but this difference was no longer seen after 10 years of follow-up.¹⁴ Pharmacological treatment at baseline was common, with almost half of this population using antihypertensive medications. Despite the strong association between antihypertensive treatment and CRP in this study, CRP remained related to CHD independent of its use. Moreover, no clear difference was found in the association between CRP and CHD according to burden of subclinical atherosclerosis as measured according to IMT or the presence of carotid plaques. To the contrary, in a recent analysis of the CHS, CRP was associated with CVD (myocardial infarction and stroke) and all-cause mortality

only in subjects with detectable atherosclerosis (high-risk plaque and higher IMT),²³ although direct comparisons between these two studies may be difficult, given that qualitative data (echo-characterization) of the carotid plaques was not available in the Three-City Study and differences in the duration of follow-up (4 vs 11 years) and in the studied outcomes (CHD vs CVD and total mortality). Nevertheless, the possible interplay between CRP, subclinical atherosclerosis burden, and CHD risk in elderly people remains to be further explored.

Despite the significant association between CRP and CHD in the present study, CRP did not improve the discriminative ability of a multivariable model predicting CHD risk and including traditional risk factors, consistent with what has been previously reported.^{23,24} The simultaneous assessment of several biomarkers from different pathways (multimarker approach) might be a more-powerful approach.²⁵

Whether CRP is causally related to CHD remains an area of intense debate. Recently published results of the Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin suggested a major benefit of statin therapy (rosuvastatin) for prevention of CVD in people with LDL-C in the normal range but moderately high CRP.²⁶ However, the CVD risk reduction directly attributable to the decrease of CRP in this trial remained to be evaluated. Addressing Mendelian randomization of CRP on CHD risk may also represent an argument of causality, but most earlier studies have not been consistent, in part because of insufficient statistical power.^{27–30} Therefore, the analysis of the mechanisms linking CRP to CHD remain to be further explored.

LIMITATIONS

Some limitations need to be considered. No sequential measurements of CRP were available. The current analysis was based on 4 years of follow-up, but the association between CRP and CHD might be different in the longer term. The study may have lacked statistical power in subgroup analysis. As previously shown, volunteers in the Three-City Study are healthier than the general population, so the current results cannot be extrapolated to the entire elderly population, especially the frailest.

CONCLUSION

The present study suggests that a higher systemic CRP level is an independent risk indicator of CHD risk over 4 years in community-dwelling elderly people but does not improve coronary risk prediction beyond traditional CHD risk factors. The possible incremental value of CRP in predicting CHD risk in community-dwelling elderly people should be further compared with that of biomarkers from different pathways.

ACKNOWLEDGMENTS

Conflict of Interest: The editor in chief has reviewed the conflict of interest checklist provided by the authors and has determined that the authors have no financial or any other kind of personal conflicts with this paper.

The Three-City Study is conducted under a partnership agreement between the Institut National de la Santé et de la

Recherche Médicale (INSERM), the Victor Segalen-Bordeaux II University, and Sanofi-Aventis. The Fondation pour la Recherche Médicale funded the preparation and initiation of the study. The Three-City Study is also supported by the Caisse Nationale Maladie des Travailleurs Salariés; Direction Générale de la Santé; MGEN; Institut de la Longévité; Conseils Régionaux of Aquitaine and Bourgogne; Fondation de France; Institut de Santé Publique, d'Epidémiologie et de Développement, Bordeaux; and Ministry of Research–INSERM programme Cohorte et Collections de données biologiques.

Author Contributions: All authors revised the article critically for important intellectual content and have seen and approved the final version of this manuscript. C. Straczek did statistical analysis, interpreted the data, and drafted the manuscript. P. Ducimetière, P. Barberger-Gateau, K. Ritchie, C. Tzourio, and P. Amouyel contributed to conception, design, and acquisition of data. C. Helmer, X. Jouven, and L. Carcaillon contributed to interpretation of data. J.P. Empana contributed to interpretation of data and drafting of the manuscript, had full access to all of the data, and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Sponsor's Role: None.

REFERENCES

- Libby P, Sukhova G, Lee RT et al. Cytokines regulate vascular functions related to stability of the atherosclerotic plaque. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25(Suppl 2):S9–S12.
- Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115–126.
- van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM et al. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994;89:36–44.
- Luc G, Bard JM, Juhan-Vague I et al. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: The PRIME Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1255–1261.
- Pai JK, Pischon T, Ma J et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med* 2004;351:2599–2610.
- Ridker PM, Rifai N, Rose L et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002;347:1557–1565.
- Danesh J, Wheeler JG, Hirschfeld GM et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004;350:1387–1397.
- Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499–511.
- Cesari M, Penninx BW, Newman AB et al. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: Results from the Health ABC study. *Circulation* 2003;108:2317–2322.
- Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM et al. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly. Results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1121–1127.
- van der Meer IM, de Maat MP, Kiliaan AJ et al. The value of C-reactive protein in cardiovascular risk prediction: The Rotterdam Study. *Arch Intern Med* 2003;163:1323–1328.
- Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ et al. Relative value of inflammatory, hemostatic, and rheological factors for incident myocardial infarction and stroke: The Edinburgh Artery Study. *Circulation* 2007;115:2119–2127.
- Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE et al. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: Prospective analysis from the Women's Health Initiative Observational Study. *JAMA* 2002;288:980–987.

14. Cushman M, Arnold AM, Psaty BM et al. C-reactive protein and the 10-year incidence of coronary heart disease in older men and women: The Cardiovascular Health Study. *Circulation* 2005;112:25–31.
15. Manolio TA, Pearson TA, Wenger NK et al. Cholesterol and heart disease in older persons and women. Review of an NHLBI workshop. *Ann Epidemiol* 1992;2:161–176.
16. Kronmal RA, Cain KC, Ye Z et al. Total serum cholesterol levels and mortality risk as a function of age. A report based on the Framingham data. *Arch Intern Med* 1993;153:1065–1073.
17. Kritchevsky SB, Cesari M, Pahor M. Inflammatory markers and cardiovascular health in older adults. *Cardiovasc Res* 2005;66:265–275.
18. The 3C Study Group. Vascular factors and risk of dementia: Design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology* 2003;22:316–325.
19. Empana JB, Zureik M, Garipey J et al. The metabolic syndrome and the carotid artery structure in noninstitutionalized elderly subjects: The Three-City Study. *Stroke* 2007;38:893–899.
20. Zureik M, Ducimetiere P, Touboul PJ et al. Common carotid intima-media thickness predicts occurrence of carotid atherosclerotic plaques: Longitudinal results from the Aging Vascular Study (EVA) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1622–1629.
21. Clauss A. Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen. *Acta Haematol* 1957;17:237–246.
22. Kulathinal S, Karvanen J, Saarela O et al. Case-cohort design in practice—experiences from the MORGAM Project. *Epidemiol Perspect Innov* 2007;4:15.
23. Cao JJ, Arnold AM, Manolio TA et al. Association of carotid artery intima-media thickness, plaques, and C-reactive protein with future cardiovascular disease and all-cause mortality: The Cardiovascular Health Study. *Circulation* 2007;116:32–38.
24. Lloyd-Jones DM, Liu K, Tian L et al. Narrative review: Assessment of C-reactive protein in risk prediction for cardiovascular disease. *Ann Intern Med* 2006;145:70–72.
25. Zethelius B, Berglund L, Sundstrom J et al. Use of multiple biomarkers to improve the prediction of death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2008;358:2107–2116.
26. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008;359:2195–207. Epub 2008 Nov 9.
27. CRP CHD Genetics Collaboration. Collaborative pooled analysis of data on C-reactive protein gene variants and coronary disease: Judging causality by Mendelian randomisation. *Eur J Epidemiol* 2008;23:531–540.
28. Lange LA, Carlson CS, Hindorf LA et al. Association of polymorphisms in the CRP gene with circulating C-reactive protein levels and cardiovascular events. *JAMA* 2006;296:2703–2711.
29. Kivimaki M, Lawlor DA, Smith GD et al. Does high C-reactive protein concentration increase atherosclerosis? The Whitehall II Study. *PLoS ONE* 2008;3:e3013.
30. Zacho J, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS et al. Genetically elevated C-reactive protein and ischemic vascular disease. *N Engl J Med* 2008;359:1897–1908.



Do lipids and apolipoproteins predict coronary heart disease under statin and fibrate therapy in the primary prevention setting in community-dwelling elderly subjects? The 3C Study

C. Straczek^{a,*}, M. Tafflet^a, P. Barberger-Gateau^b, M. Bertrand^c, A.M. Dupuy^d, P. Ducimetière^e, J.P. Empana^a

^a INSERM U970, Paris Cardiovascular Research Center (PARCC), Paris Descartes University, UMR-S970, Paris, France

^b INSERM U897, Bordeaux F-33076, France

^c INSERM U708, Paris F-75651, France

^d INSERM U888, Hôpital Lapeyronie, Montpellier F-34093, France

^e Paris-Sud University, Villejuif F-94807, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 May 2010

Received in revised form 25 October 2010

Accepted 25 October 2010

Available online 3 November 2010

Keywords:

Epidemiology

Risk factors

Lipids

Statin therapy

Elderly

ABSTRACT

Purpose: To evaluate associations of standard lipids and apolipoproteins with incident coronary heart disease (CHD) in older adults according to lipid-lowering treatment (LLT) in the primary prevention setting.

Methods: Within the 3C Study of men and women aged ≥ 65 years, standard lipids, apolipoproteins A-1 and B100 and hs-CRP were measured in baseline blood samples from 199 participants who developed a first CHD event over 4 years of follow-up and from 1081 subjects randomly selected from the initial cohort (case cohort study). Standardized hazard ratios (HRs) were estimated by the Cox proportional hazard model.

Results: In the random sample, 75.3% were free of LLT (non-users), 11.5% received statins and 13.4% fibrates. Among the non-users, all lipid parameters were significantly associated with future CHD ($n = 145$) after adjustment for age, gender, study center and educational level, and their HRs were comparable. For instance, the HR for LDL-cholesterol was 1.38 (95% CI: 1.13–1.69). These associations also existed and were stronger among statin users ($n = 27$ CHD), as shown by an HR for LDL-cholesterol of 2.20 (95% CI: 1.27–3.81). Additional adjustment for traditional risk factors and hs-CRP marginally modified HR estimates in those receiving or not receiving statins. Among fibrate users ($n = 27$ CHD), significant associations were observed for triglycerides only (1.68; 95% CI = 1.04–2.72) in fully adjusted analyses.

Conclusion: In older adults, standard lipids and apolipoproteins are stronger predictors of CHD in those receiving statins than in those who are not in the primary prevention setting. Under fibrate treatment, only triglycerides were independent predictors of CHD.

© 2010 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

In middle-aged individuals, the causal relationship between cholesterol, especially LDL cholesterol, and coronary heart disease (CHD) [1], and the efficacy of statin therapy in reducing CHD risk, are firmly established [1–5]. Fibrates have also been suggested to reduce the incidence of nonfatal myocardial infarction [6]. In the elderly, the evidence of an association between lipids and subsequent CHD in observational studies is less clear [7–10], although statins have been shown to reduce the risk of cardiovascular dis-

ease in this population [2,11]. Since the late '90s, statin therapy has been increasingly prescribed for the elderly population [12,13]. The possible link between lipids and CHD risk in the elderly thus needs to be revisited while separating those who receive lipid-lowering treatment (LLT) from those who do not, a study that has not yet been undertaken in this population. The observation that lipids remain predictive of CHD in spite of statin therapy (residual risk) would raise the important question of whether or not more intensive lipid management should be used in the elderly. In this light, using data from the Three-City Study, a large French population-based prospective study of community-dwelling elderly subjects [14], we attempted to clarify the association between lipids, apolipoproteins and CHD risk in the elderly, by separating individuals based on the prescription of LLT and statin therapy in particular, in the primary prevention setting.

* Corresponding author at: 51 avenue du maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Creteil, France. Tel.: +33 01 49 81 47 46; fax: +33 01 49 81 47 94.
E-mail address: Celine.straczek@inserm.fr (C. Straczek).

2. Methods

2.1. Study population

The Three-City Study is a French multicenter prospective cohort investigating the determinants of CHD, stroke, and dementia in community dwelling elderly participants. The study protocol has been described previously [14]. Briefly, men and women aged 65 years and older were selected from the electoral rolls of 3 cities and invited to participate in the study. Overall, 9294 subjects agreed to participate (3649 men and 5825 women): 2104 in Bordeaux in the southwest, 4931 in Dijon in the northeast, and 2259 in Montpellier in the southeast, respectively. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the University Hospital of Kremlin-Bicêtre, and each participant gave written informed consent.

2.2. Baseline data

A face-to-face questionnaire was administered to participants by trained interviewers, to collect socio-demographic information, information regarding health-related behavior such as alcohol or tobacco use, and previous medical history. Subjects underwent a physical examination during which blood pressure, height and weight were measured. Hypertension was defined as a blood pressure $\geq 140/90$ mmHg measured on two occasions after 5 min of rest or the use of antihypertensive medication at baseline.

2.3. Assessment of medications

The face-to-face questionnaire included an inventory of all drugs used during the preceding month [15]. To reduce underreporting, participants interviewed at home were asked to show medical prescriptions, drug packages, and any other relevant information, while those interviewed at the study center were asked to bring their prescriptions. The trade names of all drugs were recorded. No data on doses or duration were collected. Drug names were automatically coded using the World Health Organization Anatomical Therapeutic Chemical classification system. As previously shown, the concordance rate between self-reported use of LLT and individual data extracted from the database of the French National Health Insurance System was 92% for a subsample of the 3C Study [15].

Blood was collected at baseline after overnight fasting. A set of common biological parameters, including total cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides (TG) and glycemia, was measured for the entire cohort and analyses centralized in a single laboratory using standard methods. LDL-cholesterol was estimated by Friedewald's formula for $TG \leq 4.5$ g/L. Non-HDL cholesterol was calculated as the difference between total cholesterol and HDL cholesterol. Diabetes was defined by a fasting glycemia of greater than 126 mg/dl or by the use of antidiabetic medications. Thereafter, blood samples were frozen using a standardized protocol at -80°C .

2.4. Follow-up and event ascertainment

Participants were re-examined at the study center or at home 2 and 4 years after baseline examination. During these intermediate examinations, subjects were interviewed regarding the occurrence of hospitalizations for a CHD event in the 2 intervening years. Those who could not be re-examined ($n=722$ at 2 years and $n=752$ at 4 years) answered a mail questionnaire. For all subjects reporting a possible event, trained physicians obtained hospital charts or the practitioner's correspondence and recorded symptoms and the date of events. CHD events included stable and unstable angina pectoris, coronary balloon dilatation or artery bypass, myocardial infarction and death due to CHD (codes I210–I219, I251–I259, I461 and R960 ICD-10). After 4 years of follow-up, CHD status was known

for 96% of the initial cohort. Subjects with missing data on CHD status ($n=414$) were more often older ($p<0.0001$), male ($p=0.034$), diabetic ($p=0.005$), and with lower HDL cholesterol ($p=0.02$) and higher TG ($p=0.02$) at baseline.

2.5. Case cohort study

A case cohort study was built at the end of 4 years of follow-up for the investigation of non-standard risk markers [16]. It comprised 199 subjects who experienced a first CHD event during the 4 years of follow-up and a sub-cohort of 1086 subjects randomly selected from the initial cohort in strata defined by center, age (5 year-intervals) and gender, and who had no personal history of CHD at baseline. Apolipoprotein A-I (ApoA), apolipoprotein B-100 (ApoB) and high-sensitivity CRP (hs-CRP) were centrally measured in thawed baseline plasma by technicians blind to CHD status using a particle-enhanced turbidimetric immunoassay. The sensitivity and the inter assay coefficient of variation of these assays were, respectively, 1.07 $\mu\text{mol/L}$ and 3.6% for ApoA, 0.11 $\mu\text{mol/L}$ and 2.9% for ApoB and 0.15 mg/L and 2.6% for hs-CRP.

2.6. Statistical analysis

Information regarding LDL cholesterol was missing for 4 participants from the sub-cohort and for one participant from the sample of cases, and regarding apolipoproteins for one participant from the subcohort. Thus, the final study population included 198 subjects who developed a CHD event over the 4-year period and 1081 subjects in the sub-cohort. Baseline characteristics were explored within the sub-cohort and were compared between participants who did not receive LLT, those who received statins and those who received fibrates, using logistic and general linear regression analyses adjusted for age, gender and study center, for categorical and continuous variables, respectively. In each LLT group, a Cox proportional hazard model suited to the case-cohort design was used to estimate the standardized hazards ratio (HRs) and 95% confidence intervals (95% CIs) of each lipid parameter with respect to CHD [17]. Analyses were first adjusted for age, gender, study center and educational level (model 1) and then for daily total alcohol use, body mass index (BMI), diabetes, systolic blood pressure, antihypertensive treatment and hs-CRP (model 2). All analyses were two-sided and p -values <0.05 indicated a statistically significant difference. Analyses were carried out using SAS 9.0 (SAS Institute Inc).

3. Results

3.1. Baseline characteristics

The sub-cohort consisted of 414 men (38.1%) and 672 women (61.9%), with a mean age ($\pm\text{SD}$) of 73.7 years (± 5.3). The baseline characteristics of the sub-cohort by LLT category are shown in Table 1. There were 816 participants (75.1%) who did not receive any LLT, 145 (13.4%) who received fibrates (of whom 70% received fenofibrate) and 125 (11.5%) who received statin therapy (of whom 43 received simvastatin, 30 pravastatin, 25 atorvastatin and 20 cerivastatin). Compared to the non-treated group and with respect to non-lipid risk factors, those under statins tended to be more diabetic ($p=0.07$) and to have a higher BMI ($p=0.08$), whereas those under fibrates were more likely to be women ($p=0.07$), were more diabetic ($p=0.02$) and tended to have higher hs-CRP levels ($p=0.09$). Moreover, those under statin or fibrate therapy had significantly lower mean lipid concentrations compared to the non-treated group ($p<0.001$), except for triglycerides, which were higher in those under statins ($p=0.002$); ApoA1 and HDL levels were not significantly different between the groups.

Table 1

Baseline characteristics of subjects with and without lipid-lowering treatment in the subcohort. The Three-City Study.

	No lipid-lowering treatment n = 816	Statins n = 125	Fibrates n = 145	p [†]	p [‡]
Age	73.8 (5.5)	73.0 (4.7)	73.7 (4.7)	0.10	0.62
Males	327 (40.1)	41 (32.8)	46 (31.7)	0.14	0.07
>12 years of schooling	211 (30.2)	28 (25.2)	21 (16.2)	0.40	0.004
Living alone	288 (35.4)	41 (33.1)	49 (34.0)	0.35	0.22
Monthly income <1500 Euros	268 (34.8)	37 (31.4)	51 (37.5)	0.24	0.83
Regular or frequent physical activity	190 (31.8)	39 (44.3)	25 (24.5)	0.04	0.18
Current or former smoker	314 (38.5)	49 (39.2)	51 (35.2)	0.26	0.77
Non-drinker	160 (20.4)	19 (15.6)	27 (19.3)	0.05	0.47
1–3 glasses of alcohol/week	515 (66.6)	85 (69.7)	97 (69.3)		
>3 glasses of alcohol/week	110 (14.0)	18 (14.8)	16 (11.4)		
Diabetes or impaired fasting glucose	84 (10.3)	19 (15.2)	24 (16.6)	0.07	0.02
Systolic blood pressure (mmHg)	146.5 (21.2)	148.5 (23.3)	145.3 (21.2)	0.17	0.65
BMI (kg/m ²) ^a	25.1 (22.9–27.5)	26.2 (23.9–28.4)	25.3 (23.5–28.4)	0.08	0.52
hs-CRP (mg/L) ^a	2.0 (1.0–4.2)	1.8 (1.2–3.6)	2.5 (1.2–4.5)	0.8	0.09
ApoB-100 (g/L)	0.99 (0.21)	0.96 (0.20)	0.94 (0.18)	0.16	0.004
LDL cholesterol (mmol/L)	3.76 (0.85)	3.39 (0.86)	3.54 (0.68)	<0.0001	0.001
Triglycerides ^a (mmol/L)	1.10 (0.86–1.46)	1.28 (0.98–1.66)	0.93 (0.70–1.22)	0.002	<0.0001
Non-HDL (mmol/L)	4.23 (0.95)	4.01 (0.94)	4.01 (0.81)	0.002	<0.0001
ApoA1 (g/L)	1.67 (0.30)	1.70 (0.30)	1.73 (0.31)	0.70	0.10
HDL cholesterol (mmol/L)	1.63 (0.40)	1.60 (0.41)	1.63 (0.40)	0.21	0.55
ApoB100/ApoA1	0.61 (0.17)	0.59 (0.17)	0.56 (0.16)	0.24	0.005
LDL/HDL	2.44 (0.81)	2.25 (0.81)	2.32 (0.80)	0.02	0.15

Data are expressed as n (%) and mean (SD) for categorical and continuous variables, respectively.

^a Continuous variables expressed as median (interquartile range).

Logistic regression and General Linear Model adjusted for age, gender and study centers, for categorical and continuous variables, respectively, for comparison between:

[†] Statins and no lipid-lowering treatment.[‡] Fibrates and no lipid-lowering treatment.

3.2. Lipids, apolipoproteins and future CHD according to LLT group

Among participants who were non-users of LLT at baseline, 145 had a first CHD event during the follow-up period. In this group, as shown in Table 2, LDL cholesterol, triglycerides, non-HDL cholesterol, ApoB100, and ApoB/ApoA1 and LDL/HDL cholesterol ratios were all predictive of CHD after adjustment for age, gender, study center and educational level; ApoA1 and HDL cholesterol had a marginally significant inverse association with CHD. After additional adjustment for alcohol, BMI, diabetes, hypertension, and hs-CRP (Fig. 1), LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, ApoB100, ApoB/ApoA1 and LDL/HDL cholesterol ratios remained predictors of CHD. In addition, these associations were of comparable strength. In contrast, the association with triglycerides became only marginally significant while those with ApoA1 and HDL cholesterol were no longer observed.

Among individuals receiving statins at baseline, 27 had a CHD event during follow-up. As shown in Table 2, in this group, most

lipid parameters, except ApoA1 and HDL cholesterol, were significant predictors of CHD in analyses adjusted for age, gender, study center and educational level. The hazard ratios increased after adjustment for additional non-lipid risk factors (Fig. 1), except for triglycerides and ApoA1. Moreover, for a given lipid parameter, the association with CHD was stronger in those under statin therapy than in those who were non-users of LLT. Differences were statistically significant for triglycerides ($p = 0.03$), the LDL/HDL ratio ($p = 0.05$) and non-HDL cholesterol ($p = 0.05$), and almost significant for ApoB/ApoA1 ratio ($p = 0.07$) in fully adjusted analyses.

Among individuals on fibrates at baseline, 27 developed CHD during follow-up. In this group, triglycerides and HDL-cholesterol were significant predictors of CHD in analyses adjusted for age, gender, study center and educational level; in fully adjusted analyses, only triglycerides remained associated with CHD (Fig. 1).

Moreover, among non-LLT users, in all fully adjusted models, hs-CRP (cut-off value of 3 mg/L) and hypertension were the other significant predictors of CHD, with an HR of 1.3 and 1.7, respectively. In those under statins, the HR for hs-CRP was significant,

Table 2

Hazard ratios of standard lipids, apolipoproteins and their respective ratios with a first coronary heart disease event during 4 years of follow-up, according to lipid-lowering treatment group. The Three-City Study.

	No lipid-lowering treatment	On statin treatment	On fibrate treatment
Subjects in the subcohort	816	125	145
CHD events	145	27	27
	HR and 95% CI	HR and 95% CI	HR and 95% CI
ApoB-100	1.42 [1.19–1.71]	2.65 [1.41–4.96]	1.03 [0.70–1.53]
LDL cholesterol	1.38 [1.13–1.69]	2.20 [1.27–3.81]	0.75 [0.45–1.24]
Triglycerides	1.26 [1.05–1.50]	3.36 [1.67–6.76]	1.68 [1.04–2.72]
Non-HDL	1.43 [1.18–1.74]	3.22 [1.72–6.04]	0.98 [0.63–1.53]
ApoA-I	0.80 [0.65–1.00]	0.53 [0.27–1.07]	0.72 [0.44–1.17]
HDL cholesterol	0.83 [0.67–1.02]	0.47 [0.18–1.20]	0.53 [0.29–0.97]
ApoB-100/ApoA-I	1.48 [1.23–1.78]	2.83 [1.58–5.06]	1.23 [0.81–1.87]
LDL/HDL	1.38 [1.14–1.67]	2.66 [1.59–4.45]	1.22 [0.80–1.86]

Cox proportional hazard ratio for a 1SD-increase of each lipid parameter adjusted for age, sex, study center and educational level.

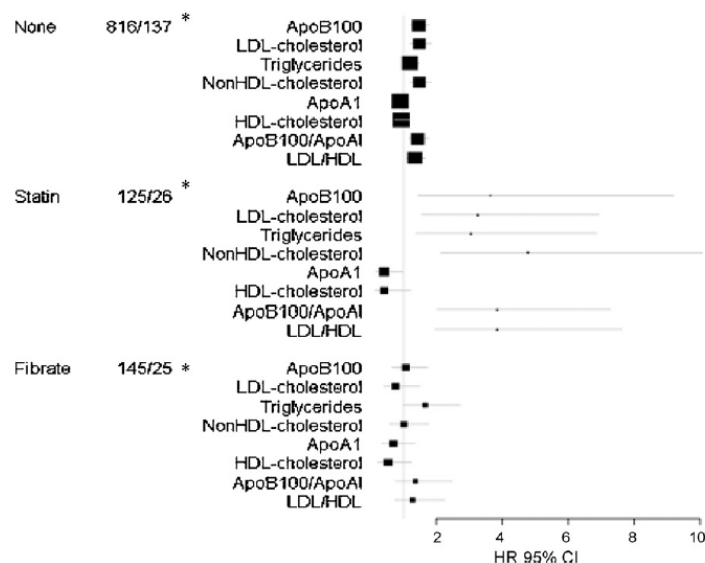


Fig. 1. Multivariate adjusted hazard ratios for lipid parameters associated with CHD over 4 years according to lipid-lowering treatment group. The Three-City Study.

*Subjects in the subcohort/CHD events. In each group, standardized hazard ratios were estimated using separate Cox models and were adjusted for age, sex, study center, educational level, alcohol use, body mass index, diabetes, systolic blood pressure, antihypertensive treatment and hs-CRP.

ranging between 4 and 5, and was consistently stronger than for any lipid parameter. The association with hypertension did not reach statistical significance. In those under fibrates, neither hs-CRP nor hypertension was associated with CHD (not shown).

4. Discussion

In community dwelling elderly participants from the Three-City Study, there was some heterogeneity in the association between lipids and future CHD, according to the lipid-lowering treatment received at baseline. In those who did not receive any lipid-lowering treatment, LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, ApoB100, ApoB/ApoA1 and LDL/HDL cholesterol ratios were all predictors of CHD over 4 years, independently of other traditional risk factors and hs-CRP. Among those who received statin therapy (11.5% of the study cohort), the same lipid parameters were predictors of CHD, but in general with greater strength. In those who were on fibrates (13% of the study cohort), only triglycerides were independent predictors of CHD.

Data on statin therapy prescription rates in the elderly in the primary prevention setting are scarce and variable between studies. Only 2% (8% in those with prior cardiovascular disease) of survivors of the Whitehall Study II in 1997 were on statin therapy [9], but this figure reached 20% between 1998 and 2000 in participants from the Beaver Dam Eye Study and the Epidemiology of Hearing Loss Study [13]. The currently reported rates are intermediate to these, and are also consistent with those previously described in the EVA study, a French population based study that took place between 1994 and 1996 [18]. The present study also indicates that fibrates were prescribed to a substantial proportion of the participants at entry into the study between 1999 and 2001.

In contrast to the middle-aged population, there remains some uncertainty regarding the association between lipids and incident CHD in the elderly. For instance, in survivors of the Whitehall Study comprising elderly men aged 77 years on average, higher than usual levels of total cholesterol, LDL cholesterol and ApoB were associ-

ated with higher mortality due to ischemic heart disease over 7 years in those without previous cardiovascular disease, i.e. in 75% of the study cohort, whereas the opposite trend (although not statistically significant) was seen in those with previous cardiovascular disease [9]. In the Cardiovascular Health Study, which included men and women aged 65 years and over, total and LDL cholesterol and triglycerides, were weakly and often marginally associated with cardiovascular disease, including myocardial infarction, stroke and overall mortality during the 7.5 years of follow-up [10]. In this study, however low HDL-cholesterol and increased MI risk was nonetheless strong and consistent.

The current analysis extends the results of these previous studies by separately investigating those who received LLT at baseline and those who did not. All lipids except ApoA1 and HDL cholesterol were independent predictors of CHD in those not taking any LLT at baseline, indirectly corroborating the benefits of statin therapy in reducing cardiovascular disease in elderly participants of the PROSPER and the AFCAPS/TexCAPS trials [2,11]. We also found that lipids remained independent predictors of CHD under statin therapy, possibly with a stronger association than that observed in the absence of LLT. This result may reflect a lack of adherence to statin treatment, which in itself may increase the risk of CHD [19]. A previous analysis of the Three-City Study indicated, however, that drug exposure and compliance with treatment were fairly good [15]. In those under statins at baseline, we looked for differences in baseline characteristics that could explain why some subjects still had elevated lipid concentrations. In fact, the baseline characteristics of those with LDL cholesterol above or below the median value (3.7 mmol/L, approximating the usual target value of 130 mg/dl) under statin therapy were not different with respect to age, gender, sleep disturbances, mini mental state examination, depressive symptoms, physical activity, number of drugs currently used or renal function. More frequent side effects under statin therapy have been described in women, possibly leading to more discontinuation of treatment than in men [20]. In the current study however, the proportion of normalized LDL cholesterol under statin therapy on

the one hand, and the pattern of association between lipids and CHD under statin therapy on the other hand, were comparable in both genders. Alternatively, subjects under statin therapy may have a worse cardiovascular risk profile or an underlying chronic condition (indication bias). However, the results remained unchanged when adjustment for baseline characteristics was carried out or when those who died within the first 2 years were excluded. Therefore, the current study suggests that under statin therapy, there remains a substantial residual risk of CHD that is attributable to some extent to lipid levels.

The currently reported association between lipid levels under statin treatment and CHD risk corroborates those recently obtained in middle-aged subjects in post hoc analyses of randomized controlled trials of primary and secondary prevention [21–23]. Conversely, they are in contrast to the results of a post hoc analysis from the PROSPER trial that included elderly participants of 70–82 years of age. In this analysis, neither standard lipids nor apoA1 or ApoB levels after 3 months of statin therapy predicted CHD over 3.2 years [24]. This trial, however, consisted of elderly individuals with a history of vascular disease or who were at high risk for CHD, contrary to our study population. Moreover, the current study indicates that the pattern of association between lipids and CHD is different between those under statins and those under fibrates. In the latter, triglycerides were the sole lipids to be predictive of CHD once non-lipid risk factors and LDL and non-HDL cholesterol were adjusted for. This heterogeneity might reflect differences in the baseline characteristics between statin and fibrate users. Fibrate users were less educated and more diabetic while statin users exercised more and drank less compared to those who were free of LLT. However, adjustment for these differences did not eliminate such heterogeneity in the current study. It may also reflect the indication for which the respective agent was given, usually hypercholesterolemia for statins and hypertriglyceridemia for fibrates. It should be remembered however that treatment indication was not reported in the current study. Further studies not only in the elderly but also in the middle-aged population are therefore needed to confirm and explore the mechanisms of this heterogeneity.

4.1. Clinical implications

The results of the current and previous studies raise the question of whether lowering the targeted level of LDL cholesterol under statin therapy would decrease even further the CHD risk attributable to lipids. Recent results from the SAGE trial, comparing atorvastatin, 80 mg/day, with pravastatin, 40 mg/day, suggest that intensive statin therapy is of benefit and well tolerated in older men and women with coronary artery disease [25]. Whether such a strategy would be of benefit in elderly people in the primary prevention setting is currently unknown and needs to be demonstrated in randomized controlled trials. The combination of statin therapy with other lipid-regulating agents or more aggressive dietary and life-style modification could also be an option, with greater benefits than those achieved by statins alone. Moreover, in those already under fibrates, the best preventive strategy towards CHD risk is also to be evaluated.

4.2. Limits

These results should be interpreted with certain limitations in mind. One obvious limitation was the low number of CHD events, especially in those receiving LLT, which affected the precision of the hazard ratio estimates. Moreover, information on the duration and titration of the treatment was unavailable at baseline examination. The allocation of LLT was not controlled randomly and may have been subject to an indication bias. Finally, the generalizability of the

current results to non-Caucasian populations and to frailer elderly subjects needs to be evaluated.

5. Conclusion

To conclude, the present study conducted in community-dwelling elderly subjects in the setting of primary prevention suggests the presence of some heterogeneity regarding the association of lipids and apolipoproteins with CHD risk according to lipid-lowering treatment received. In the absence of lipid-lowering treatment, standard lipids, non-HDL cholesterol and apolipoprotein B100 are independent predictors of CHD. In those under statins, these associations remain and appear stronger. In those under fibrates, only triglycerides and not LDL-cholesterol are the sole independent predictors of CHD.

Financial support

The Three-City Study was conducted under a partnership agreement between the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), the Victor Segalen – Bordeaux II University, and Sanofi-Aventis. The Fondation pour la Recherche Médicale funded the preparation and initiation of the study. The 3C Study was also supported by the Caisse Nationale Maladie des Travailleurs Salariés, Direction Générale de la Santé, MGEN, Institut de la Longévité, Conseils Régionaux de Aquitaine and Bourgogne, Fondation de France, and Ministry of Research – INSERM Programme “Cohortes et collections de données biologiques”. Researchers were independent of funding organizations.

Conflict of interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

References

- [1] Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143–421.
- [2] Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB, et al. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;360:1623–30.
- [3] MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002;360:7–22.
- [4] Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med* 1996;335:1001–9.
- [5] Delahoy PJ, Magliano DJ, Webb K, Grobler M, Liew D. The relationship between reduction in low-density lipoprotein cholesterol by statins and reduction in risk of cardiovascular outcomes: an updated meta-analysis. *Clin Ther* 2009;31:236–44.
- [6] Abourbih S, Filion KB, Joseph L, et al. Effect of fibrates on lipid profiles and cardiovascular outcomes: a systematic review. *Am J Med* 2009;122:962.e1–8.
- [7] Kronmal RA, Cain KC, Ye Z, Omen GS. Total serum cholesterol levels and mortality risk as a function of age. A report based on the Framingham data. *Arch Intern Med* 1993;153:1065–73.
- [8] Manolio TA, Pearson TA, Wenger NK, et al. Cholesterol and heart disease in older persons and women. Review of an NHLBI workshop. *Ann Epidemiol* 1992;2:161–76.
- [9] Clarke R, Emberson JR, Parish S, et al. Cholesterol fractions and apolipoproteins as risk factors for heart disease mortality in older men. *Arch Intern Med* 2007;167:1373–8.
- [10] Psaty BM, Anderson M, Kronmal RA, et al. The association between lipid levels and the risks of incident myocardial infarction, stroke, and total mortality: The Cardiovascular Health Study. *J Am Geriatr Soc* 2004;52:1639–47.
- [11] Clearfield M, Downs JR, Weis S, et al. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS): efficacy and tolerability of long-term treatment with lovastatin in women. *J Womens Health Gend Based Med* 2001;10:971–81.
- [12] Bonithon-Kopp C, Touboul PJ, Berr C, Magne C, Ducimetiere P. Factors of carotid arterial enlargement in a population aged 59 to 71 years: the EVA study. *Stroke* 1996;27:654–60.
- [13] Carlsson CM, Nondahl DM, Klein BE, et al. Increased atherogenic lipoproteins are associated with cognitive impairment: effects of statins

- and subclinical atherosclerosis. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2009;23: 11–7.
- [14] Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology* 2003;22:316–25.
 - [15] Dufouil C, Richard F, Fievet N, et al. APOE genotype, cholesterol level, lipid-lowering treatment, and dementia: the Three-City Study. *Neurology* 2005;64:1531–8.
 - [16] Straczek C, Ducimetiere P, Barberger-Gateau P, et al. Higher level of systemic C-reactive protein is independently predictive of coronary heart disease in older community-dwelling adults: the Three-City Study. *J Am Geriatr Soc* 2010;58:129–35.
 - [17] Kulathinal S, Karvanen J, Saarela O, Kuulasmaa K. Case-cohort design in practice – experiences from the MORGAM Project. *Epidemiol Perspect Innov* 2007; 4:15.
 - [18] Arnaud J, Akbaraly TN, Hininger-Favier I, Berr C, Roussel AM. Fibrates but not statins increase plasma selenium in dyslipidemic aged patients—the EVA study. *J Trace Elem Med Biol* 2009;23:21–8.
 - [19] Jackevicius CA, Mamdani M, Tu JV. Adherence with statin therapy in elderly patients with and without acute coronary syndromes. *JAMA* 2002;288: 462–7.
 - [20] Voora D, Shah SH, Spasojevic I, et al. The SLC1B1*5 genetic variant is associated with statin-induced side effects. *J Am College Cardiol* 2009;54:1609–16.
 - [21] Gotto Jr AM, Whitney E, Stein EA, et al. Relation between baseline and on-treatment lipid parameters and first acute major coronary events in the Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS). *Circulation* 2000;101:477–84.
 - [22] Kastelein JJ, van der Steeg WA, Holme I, et al. Lipids, apolipoproteins, and their ratios in relation to cardiovascular events with statin treatment. *Circulation* 2008;117:3002–9.
 - [23] Simes RJ, Marschner IC, Hunt D, et al. Relationship between lipid levels and clinical outcomes in the Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) Trial: to what extent is the reduction in coronary events with pravastatin explained by on-study lipid levels. *Circulation* 2002;105:1162–9.
 - [24] Packard CJ, Ford I, Robertson M, et al. Plasma lipoproteins and apolipoproteins as predictors of cardiovascular risk and treatment benefit in the PROspective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk (PROSPER). *Circulation* 2005;112:3058–65.
 - [25] Deedwania P, Stone PH, Bairey Merz CN, et al. Effects of intensive versus moderate lipid-lowering therapy on myocardial ischemia in older patients with coronary heart disease: results of the Study Assessing Goals in the Elderly (SAGE). *Circulation* 2007;115:700–7.

L'objectif est de tester les associations de marqueurs inflammatoires et lipidiques avec la survenue de cardiopathies ischémiques chez la personne âgée non institutionnalisée. Les analyses sont menées dans une étude cas cohorte dans le cadre de l'étude des 3 Cités. Elle inclut 199 sujets ayant développé un premier événement coronaire sur 4 ans de suivi et 1086 sujets sans antécédents cardiovasculaires (sous cohorte). Un premier travail suggère que la protéine C-réactive (CRP-US) est un marqueur de risque indépendant des événements coronaires (risque relatif standardisé du log de la CRP-US=1,27 ; IC95%=1,08-1,64) mais n'améliore pas la prédiction du risque coronaire. Le second travail démontre une hétérogénéité dans l'association des lipides classiques et des apolipoprotéines avec les événements coronaires selon la prise et la nature du traitement hypolipémiant à l'inclusion. Le troisième travail indique que les apolipoprotéines AI et B100 mais pas le non-HDL cholestérol améliorent significativement la prédiction du risque coronaire sur la base d'indice de reclassification.

Mots clés : épidémiologie, personnes âgées, cardiopathies ischémiques, facteurs de risque, prédiction cardiovasculaire individuelle

The aim was investigate associations of inflammatory and lipids markers with occurrence of ischaemic heart disease (IHD) in community dwelling elderly subjects. Within the Three City Study, a case cohort study was used including 199 subjects with first coronary events over 4 years and 1086 participants free from prevalent cardiovascular disease (random sample). The first paper showed that C-reactive protein was independently associated with IHD (standardized hazard ratio of log CRP-US=1.27; CI95%=1.08-1.64) but did not improve IHD risk prediction beyond usual risk factors. The second paper showed heterogeneity in the association between lipids and apolipoproteins with IHD depending on the use and the type of lipid-lowering therapy (statins or fibrates). Using imputations and reclassification metrics, the third paper suggests that apolipoproteins AI and B100 added significant predictive information beyond usual risk factors for IHD risk prediction.

Keywords: epidemiology, elderly, ischemic heart disease, risk factors, risk prediction

Champ disciplinaire : EPIDEMIOLOGIE ET INTERVENTION EN SANTE PUBLIQUE

Centre de recherche cardiovasculaire de Paris (PARCC) unité INSERM 970
Equipe 4 : Epidémiologie cardiovasculaire et Mort Subite
56, rue Leblanc
75737 PARIS CEDEX 15